

Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro

**Segurança Alimentar em Pescado**

Dissertação de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária

Matilde da Fonseca de Oliveira Tenreiro de Matos

Orientadora: Professora Doutora Maria Madalena Vieira-Pinto

Co-Orientadora: Professora Doutora Maria João Faria Leite Dias dos Santos



Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro

Vila Real, 2017

Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro

**Segurança Alimentar em Pescado**

Dissertação de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária

Matilde da Fonseca de Oliveira Tenreiro de Matos

Orientadora: Professora Doutora Maria Madalena Vieira-Pinto

Co-Orientadora: Professora Doutora Maria João Faria Leite Dias dos Santos

Composição do Júri:

---

---

---

Vila Real, 2017





O conteúdo apresentado é da exclusiva responsabilidade do Autor



## **Agradecimentos**

Reservei este espaço para agradecer às pessoas que de certa forma ajudaram-me a alcançar uma etapa da vida, à já muito aguardada. Conseguir terminar o Mestrado Integrado de Medicina Veterinária é acima de tudo um sonho de criança e o caminho percorrido até chegar a este ponto foi sem dúvida repleto de obstáculos que só consegui vencer com o apoio, paciência, amor e conhecimentos de algumas pessoas que ou sempre estiveram na minha vida ou que foram aparecendo pelo caminho.

Ainda que sinta que estas palavras poderão não ser o suficiente, obrigada por tudo.

Início agradecendo à Prof.<sup>a</sup> Madalena Vieira-Pinto, minha orientadora, pois foi através das suas aulas que o gosto pela inspeção hígio-sanitária apareceu, com os seus vastos conhecimentos e experiência que aliados à sua sempre boa disposição faziam parecer que as aulas eram demasiado curtas. Agradeço-lhe todas as oportunidades que proporcionou e o incentivo e orientação de fazer uma dissertação com sucesso.

À Prof.<sup>a</sup> Maria João Santos, minha co-orientadora, por ter disponibilizado o seu laboratório, a sua sabedoria, apoio e paciência que me permitiram realizar o estudo e aprofundar os meus conhecimentos.

À Dr.<sup>a</sup> Helena Hörster dedico um agradecimento especial pela possibilidade de poder estagiar sob a sua alçada. Para além de ter partilhado conhecimentos e experiências que levarei sempre comigo e ter dedicado o seu tempo e paciência a orientar-me da melhor maneira, foi também uma amiga e confidente que encontrei durante aquelas frias manhãs na lota.

Agradeço a todos os elementos da Direção de Serviços Veterinários da Região Norte por me terem recebido com um sorriso e partilhado conhecimentos e experiências.

Um agradecimento aos funcionários e funcionárias das lotas de Matosinhos e Póvoa de Varzim, pelos conhecimentos partilhados, boa disposição e ajuda prestada.

Uma palavra de apreço ao Prof. Paulo Vaz-Pires por ter aceitado aquele convite que levaria ao desenrolar desta aventura. Agradeço toda a disponibilidade, oportunidades e ajuda que forneceu. E ao Bernardo Archer e Bruno Lopes que me incentivaram a aventurar num mundo da Medicina Veterinária que me era desconhecido.

Um agradecimento especial à Joana Filipe Reis e a sua pequena Matilde, por me terem disponibilizado um lugar que acabou por me fazer sentir em casa, com todo o amor, carinho e apoio durante os meses que passei no Porto.

Agradeço aos meus colegas de curso que durante todos estes anos lutaram comigo para também poderem alcançar os seus sonhos e que por isso foram companheiros e amigos.

Agradeço aos companheiros de quatro patas que me acompanharam na vida. Com a Alfa, a minha primeira cadela, ganhei a paixão pelos animais e a sede de ser Médica Veterinária, sei que ela estaria orgulhosa se me visse agora. Com o Tejo cresci e encontrei um irmão peludo, teimoso mas corajoso. Com a minha doce Mel obtive um amor incondicional que me ajudou a ultrapassar momentos difíceis.

Agradeço aos amigos prováveis e improváveis que encontrei na minha vida universitária, Joana Carolina, Flávia Poças, Maria Manso, Joaquim Canotilho, João Cordeiro, entre outros, que me possibilitam viver aventuras por terras transmontanas que guardarei sempre comigo.

Um agradecimento muito especial às pessoas nas quais encontrei uma amizade incrível e que partilham comigo um laço que espero nunca perder, Ana Lopes, Joana Luís Monteiro e Tânia Rocha de Sousa. Que nunca deixemos de sonhar, rir e chorar juntas por muito longe que possamos estar umas das outras.

Agradeço à Natália Madeira e Filipa Simões pela antiga mas eterna amizade, pelas partilhas de medos, desejos e sonhos. O vosso apoio e amor estiveram sempre presentes.

Agradeço a toda a minha família por estarem sempre presentes e pelo seu apoio quer nos momentos bons quer nos maus.

Um agradecimento muito especial e do fundo do coração a duas das pessoas mais importantes da minha vida e que por muito que me custe, já não estão cá para me ver, a minha avó Teresa e o meu avô Ricarte. Todos os dias estão comigo e nos momentos mais difíceis é neles que penso. É na vossa cara sorridente e nas memórias do vosso calor e amor que me apoio.

Agradeço especialmente às minhas companheiras e guerreiras, as minhas três maravilhas a quem posso chamar irmãs, Catarina Matos, Inês Matos e Mariana Matos. Vocês merecem o Mundo. Confio que estaremos sempre juntas e unidas até ao fim. Com a Catarina aprendo a viver, com a Inês aprendo a nunca desistir e com a Mariana aprendo a lutar.

Um agradecimento especial a uma pequena pessoa que apareceu muito recentemente na minha vida mas sem a qual já não sei viver, a minha sobrinha Mafalda Rascão, que mudou a minha vida de tantas e variadas maneiras.

Por último o maior agradecimento de todos. Não há palavras suficientes para descrever o que sinto pelas duas pessoas mais importantes da minha vida e sem as quais não era ninguém,

a minha mãe Júlia Oliveira e o meu pai Álvaro Matos. Não só vos tenho que agradecer por terem sido os melhores pais e me terem dado as melhores irmãs que eu poderia pedir, como acima de tudo tenho que vos agradecer por terem sido os melhores amigos, confidentes e companheiros que eu poderia desejar. Obrigada pelo apoio que me deram em todas as lutas que tive que enfrentar e pelo vosso amor. A vocês dedico tudo o que fiz e farei na minha vida futura. O amor que sinto por vocês é indiscreto. Obrigado.

## Índice

Resumo.....	xi
Abstract.....	xiii
Lista de Abreviaturas.....	xv
Índice de Figuras.....	xviii
Índice de Tabelas.....	xx
Índice de Gráficos.....	xxi
1.Introdução.....	1
2. Revisão Bibliográfica.....	3
2.1. Importância do pescado: Fileira do Pescado (análise global e nacional).....	3
2.1.1. Em Portugal.....	5
2.2. Proteção do Consumidor.....	8
2.2.2. Plano HACCP.....	9
2.2.3. O papel da DGAV.....	10
2.3. Perigos no Pescado.....	13
2.3.1. Perigos Físicos.....	14
2.3.1.1. Decisão Sanitária.....	14
2.3.2. Deterioração do pescado.....	15
2.3.2.1. Decisão Sanitária.....	20
2.3.3. Perigos Biológicos.....	22
2.3.3.1. Bactérias patogénicas.....	22
2.3.3.1.1. Decisão Sanitária.....	24
2.3.3.2. Parasitas.....	24
2.3.3.2.1. Decisão Sanitária.....	27
2.3.3.3. Vírus.....	28
2.3.3.3.1. Decisão Sanitária.....	31
2.3.4. Perigos Químicos.....	29
2.3.4.1. Decisão Sanitária.....	30
2.3.4.2. Biotoxinas.....	31
2.3.4.2.1. Decisão Sanitária.....	32
2.3.4.3. Histamina.....	33
2.3.4.3.1. Decisão Sanitária.....	34
2.4. Anisquidose no Homem.....	36
2.4.1. Epidemiologia.....	37
2.4.2. Morfologia.....	38
2.4.3. Ciclo de Vida.....	40

2.4.4. Anisaquidose e Anisaquioses.....	41
2.4.4.1. Diagnóstico.....	43
2.4.4.2. Tratamento no Homem.....	44
2.4.5. Prevenção.....	44
2.4.5.1. Anisaquidose e a Aquicultura .....	47
3. Material e Métodos.....	48
3.1. Tratamento estatístico.....	50
5. Resultados e discussão.....	52
5.1. Idade do hospedeiro.....	52
5.2. Comprimento e peso do hospedeiro.....	53
5.3. Género do hospedeiro.....	54
5.4. Características de <i>Anisakis</i> spp. ....	54
5.4.1. Quanto à espécie de <i>Anisakis</i> e a sua distribuição no hospedeiro.....	54
5.5. Distribuição geográfica.....	55
6. Conclusões.....	57
7. Bibliografia.....	60
Anexos	

## Resumo

Nos últimos anos observou-se o aumento de consumo de peixe a nível mundial, inclusivamente em Portugal. Esta alteração de hábitos alimentares prende-se a diversos fatores nomeadamente como forma de obter uma vida mais saudável. Ainda assim este consumo não se encontra livre de perigos que possam representar riscos para a saúde do consumidor, sendo que um dos perigos associados ao consumo de produtos da pesca é a presença de parasitas. O potencial deste perigo varia de acordo com alguns fatores como boas práticas aplicadas ao longo da fileira de pescado, a espécie de peixe e o modo de confeção culinária, entre outros. Sendo assim, um dos papéis da DGAV é prestar serviços fiscalizadores de controlo hígio-sanitário a nível da fileira do pescado.

Neste sentido e para melhor entender o papel do Médico Veterinário na fileira do pescado, de setembro de 2015 a janeiro de 2016 acompanhou-se o trabalho da Direção de Serviços Veterinários da Região Norte. Nesta fase do trabalho descobrimos como funciona o mundo das pescas desde o momento da captura até à fase industrial. Do consumo de produtos da pesca, o parasita que revela maior preocupação atualmente para o consumidor é *Anisakis* spp. devido ao seu potencial zoonótico. Para aprofundar os conhecimentos neste tema, de dezembro de 2015 a fevereiro de 2016 dedicamo-nos a um estudo, em parceria com o CIIMAR, no qual escolhemos utilizar uma espécie de peixe de grande popularidade para isolar e estudar a identificação morfológica de larvas de *Anisakis* presentes. Para tal utilizámos 30 exemplares de pescada (*Merluccius merluccius*) com dimensões de 24-33 cm, capturada em setembro de 2015 no Atlântico Norte da costa de Portugal. Determinámos no nosso estudo que *Anisakis* spp. possui uma prevalência de 76.67%, e intensidade de  $2.04 \pm 1.67$  (1-5). *Anisakis* Tipo I possui uma prevalência de 70.0% e intensidade de  $1,8 \pm 1.07$  (1-4) e *Anisakis* Tipo II registou uma prevalência de 10.0% e intensidade de  $1,0 \pm 0.0$  (1). A nível anatómico, o local com maior prevalência de larvas foi o fígado. Foi observado que com o aumento do comprimento (idade) e peso do hospedeiro, houve também o aumento dos níveis de parasitismo, sendo que hospedeiros com mais de 28.5 cm revelaram uma prevalência ligeiramente maior. Não foram encontradas larvas no tecido muscular.

**Palavras-chave:** Fileira do pescado; DGAV; parasita; *Anisakis*; Pescada Europeia



## Abstract

In the last years we find a worldwide growing of fish consumption, including in Portugal. This changes in the food habits is associated to different factors namely as a way to obtain a better life style. Even so this consumption isn't free of hazards that might put at risk the health of the consumer, one of this hazards are parasites. The hazard potential depends according to different factors like good hygiene practices applied all along the fish sector, the fish species and the cooking method. For this reason it's of the DGAV duty to oversight services of sanitary and quality control, taking big decisions related to the fisheries industry.

For this purpose and to better understand the Veterinarian role in this industry, from September 2015 to January 2016, we followed the work done on the Diretores of Veterinary North Regional Services. During this work phase we discover how does the world of fisheries works beginning with the fish capture and going all up until the fish industry work. From the human consumer is *Anisakis* spp. which has zoonotic potential. For this reason and to increase the knowledge in this subject from December of 2015 to February of 2016, in a partnership with CIIMAR, we choose to study a fish species with high popularity and decided to isolate and study the morphologic identification of *Anisakis* larvae. We did this using a sample of 30 European hake (*Merluccius merluccius*) with a length range of 24-33 cm from the Atlantic near the North coast of Portugal.

We found that *Anisakis* spp. had prevalence value of 76.67%, and intensity of  $2.04 \pm 1.67$  (1-5). Type I had 70.0% of prevalence and intensity of  $1,8 \pm 1.07$  (1-4), and Type II recorded a prevalence of 10.0% and intensity of  $1,0 \pm 0.0$  (1). According to an anatomy level, we found the liver to be the visceral organ with the biggest larvae prevalence. It was observed that with increase of weight and length there was also an increasing of parasitization, where hosts above 28.5 cm had a slightly higher prevalence. No larvae was found in the muscle tissue.

**Key-words:** Fish and fish products industry; DGAV; parasite; *Anisakis*; European hake



## **Lista Abreviaturas**

**%** - percentagem

**ABVT** – Azoto Básico Volátil Total

**ASAE** - Autoridade de Segurança Alimentar e Económica

**ATMA** – Azoto de Trimetilamina

**ATP** - Adenosina Trifosfato

**C** – Celsius

**cm** – centímetros

**DGAV** - Direção-Geral de Alimentação e Veterinária

**EU** – European Union (União Europeia)

**EUMOFA** – European Market Observatory for Fisheries and Aquaculture Products

**FAO** - Food and Agriculture Organization

**g** – grama

**HACCP** - Hazard Analysis Critical Control Points (Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controlo)

**INE** – Instituto Nacional de Estatística

**Kg** – Kilogramas

**NASA** - National Aeronautics and Space Administration

**NCV** - Número de Controlo Veterinário

**OMS/WHO** - Organização Mundial de Saúde/ World Health Organization

**OTMA** – Óxido de Trimetilamina

**PACE** - Plano de Aprovação e Controlo de Estabelecimento

**PCB's** - Policlorobifenilos

**PCON** - Plano de Controlo Oficial dos Navios

**PIGA** - Plano de Inspeção de Géneros Alimentícios

**PNCPI** - Plano de Controlo Oficial Plurianual Integrado

**PNPR** - Plano Nacional de Pesquisa de Resíduos



## Índice de Figuras

**Figura 1.** Consumo mundial per capita (kg, 2007-2011).

**Figura 2.** Controlo oficial de embarcações no âmbito do plano de controlo realizada pelo DGAV.

**Figura 3.** O Médico Veterinário Oficial avalia a presença/ausência de incumprimentos na lota.

**Figura 4.** Presença de material (seta) de pesca num tubarão espinhoso (*Squalus acanthias*).

**Figura 5.** Avaliação da Frescura em atum (*Thunnus* spp).

**Figura 6.** A permanência da pressão feita revela perda de consistência muscular em atum (*Thunnus* spp).

**Figura 7.** Comparação do grau de frescura através da avaliação de rigor mortis de dois exemplares de atum (*Thunnus* spp.).

**Figura 8.** Pescada (*M. merluccius*) com perda total do rigor mortis.

**Figura 9.** Ruivo (*Trigla* spp.) em rigor mortis.

**Figura 10.** A presença de pulga-do-mar (círculo vermelho) leva à perda de qualidade do pescado (despigmentação visível) e à perfuração da pele (setas) permitindo o acesso do parasita às vísceras. Tamboril (*Lophius piscatorius*).

**Figura 11.** Neste caso tamboril (*Lophius piscatorius*) parasitado ficou com um aspeto geral repugnante.

**Figura 12.** Recolha de amostras no âmbito do PIGA.

**Figura 13.** Imagem da extremidade provida de mucron (seta) de um exemplar de larva de *Anisakis* do Tipo I.

**Figura 14.** Ciclo de vida de anisacídeos responsáveis pela Anisacuíose no Homem.

**Figura 15.** Aglomerados de larvas L3 (setas) de anisacídeos nas gónadas de pescada (*Merluccius merluccius*).

**Figura 16.** Larva L3 (seta) de *Anisakis* spp. detetada na cavidade visceral de pescada (*Merluccius merluccius*) durante a inspeção visual em laboratório.

**Figura 17.** Medição do comprimento.

**Figura 18.** Pesagem de cada peixe numa balança calibrada.

**Figura 19.** Larva L3 de anisquídeo fixada ao fígado de *M. merluccius*.

**Figura 20.** Larva L3 de anisquídeo retirada do baço de *M. merluccius*.

**Figura 21.** Medição do ventrículo de L3 de anisquídeo para identificação morfológica.

## **Índice Tabelas**

**Tabela 1.** Produção e utilização mundial de Pescado Selvagem e de Aquicultura entre 2009 e 2014

**Tabela 2.** Legislação suporte para o desempenho geral de funções como Médico Veterinário Oficial da DGAV

**Tabela 3.** Alterações que ocorrem no *post mortem* e características associadas.

**Tabela 4.** Algumas das bactérias patogénicas presentes no pescado.

**Tabela 5.** Parasitas mais frequentes no pescado.

**Tabela 6.** Sintomas mais comuns por envenenamento por histamina.

**Tabela 7.** Parasitas da Família Anisakidae.

**Tabela 8.** Características de *Anisakis simplex* e *Pseudoterranova dicipiens*.

**Tabela 9.** Sinais clínicos mais comuns associados às 4 síndromes de anisaquiose.

## Índice Gráficos

**Gráfico 1.** Custos *per capita* por casa, de compra de produtos da pesca e de aquicultura na EU em 2013 e variação percentual 2012/2013 (consumo fora de casa foi excluído).

**Gráfico 2.** Consumo *per capita* de pescado e produtos da pesca (kg *capita*/ano) por Estado Membro em 2011.



## 1. Introdução

O consumo de pescado ou de produtos da pesca constitui uma parte integrante dos hábitos alimentares de numerosos países a nível mundial e nos últimos anos verifica-se a tendência, por parte do consumidor, de trocar o consumo de carnes vermelhas pelo pescado de forma a obter um padrão de vida mais saudável. A baixa concentração de gordura presente nos peixes em simultâneo com as propriedades benéficas do seu consumo revelam-se como as principais causas para esta alteração de hábitos alimentares. Outro fator parece ser a crise socioeconómica vivida nos últimos 10 anos que levou o consumidor a procurar o pescado de aquicultura como uma alternativa alimentícia mais barata em comparação com o pescado selvagem. Ainda que esta alteração de hábitos alimentares se revele importante para a sobrevivência económica do sector das pescas, o aumento da procura de pescado representa a necessidade de reforçar medidas de proteção da saúde pública. Regra geral o consumidor desconhece os riscos inerentes ao consumo de produtos da pesca e como os pode prevenir. Neste trabalho listaremos resumidamente alguns dos perigos que o consumidor enfrenta ao alimentar-se de produtos da pesca, de entre os quais os parasitas. De facto, o consumo de pescado cru ou parcialmente cru aumenta o risco de doença no consumidor como por exemplo a “anisaquidose”, doença provocada por larvas de parasitas nematodes da família Anisakidae (Ramos, 2011). Em Portugal, embora não haja registo de casos clínicos de anisaquidose, frequentemente se detetam larvas de *Anisakis* em várias espécies de peixes marinhos de valor comercial. O aumento de consumo de pescado, nomeadamente o designado “selvagem”, associado ao aumento de consumo mundial de peixe cru ou parcialmente cru, tem despertado a atenção por parte de autoridades internacionais responsáveis pela proteção da saúde do consumidor devido a este risco. Em Portugal, as autoridades competentes pelo controlo e fiscalização da aplicação das regras descritas na legislação alimentar, são a Direção-Geral de Alimentação e Veterinária (DGAV) e a Autoridade de Segurança Alimentar e Económica (ASAE). A estas duas entidades foram nomeadas diferentes competências, mas que de modo geral têm como objetivo proteger o consumidor. A aplicação de medidas de controlo hígio-sanitário na fileira do pescado e a realização de estudos sobre os agentes etiológicos de doenças associadas ao consumo de pescado revelam-se importantes.

Neste documento utiliza-se o termo “pescado” como sinónimo de “produtos da pesca”.

## Objetivos

Os principais objetivos deste trabalho incluíram:

- Compreender o funcionamento do setor de pescadao em Portugal e as funções da DGAV neste setor acompanhando as atividades desenvolvidas nas lotas e nas visitas oficiais a estabelecimentos (consultar Anexo I);
- Recordar através de uma resumida revisão, os perigos mais frequentemente associados aos produtos de pesca;
- Ampliar os conhecimentos na área de parasitologia de espécies de parasitas presentes no pescadao para consumo humano, mais precisamente da família Anisakidae;
- Avaliar os níveis de infeção de *Anisakis* spp. em *Merluccius merluccius*, capturados em Portugal.

## 2. Revisão Bibliográfica

### 2.1. Importância do Pescado: Fileira do Pescado (análise global e nacional)

Atualmente o consumo de pescado ocupa um lugar de destaque nos hábitos alimentares a nível mundial. De acordo com o relatório da FAO (2016), os valores de consumo peixe *per capita* a nível mundial atingiram valores recorde de 20 kg em 2014. O crescimento na produção global de peixe, para consumo, aumentou de forma exponencial nas últimas 5 décadas, crescendo a um ritmo anual de 3.2% no período de 1961 a 2013. O consumo mundial *per capita* de peixe apresentou aumentos sendo que em média este consumo era de 9.9kg em 1960, passando a 14.4kg em 1990 e aumentando para 19.7kg em 2013 (Tabela 1). A estimativa preliminar realizada para 2014 e 2015 considerou que o consumo médio mundial de peixe *per capita* deveria rondar os 20 kg. Para explicar o aumento destes valores considera-se que serão resultados do aumento de produção, do crescimento no consumo de peixe de aquicultura, da redução de desperdícios e do aumento da procura por crescimento populacional. Outros factores que aparentam ter influência são a melhor utilização de recursos e as melhorias verificadas a nível dos canais de distribuição de produtos (FAO, 2016).

**Tabela 1.** Produção e utilização mundial de Pescado Selvagem e de Aquicultura entre 2009 e 2014 (Dados da Organização das Nações Unidas para a Alimentação e Agricultura, 2016).

Produção	2009	2010	2011	2012	2013	2014 <sup>a</sup>
<b>Capturas</b>	Milhares de Toneladas					
Fluviais	10.5	11.3	11.1	11.6	11.7	11.9
Marítimas	79.7	77.9	82.6	79.7	81.0	81.5
Total	<b>90.2</b>	<b>89.1</b>	<b>93.7</b>	<b>91.3</b>	<b>92.7</b>	<b>93.4</b>
<b>Aquicultura</b>						
Fluviais	34.3	36.9	38.6	42.0	44.8	47.1
Marítimas	21.4	22.1	23.2	24.4	25.5	26.7
Total	55.7	59.0	61.8	66.5	70.3	73.8
<b>Total</b>	<b>145.9</b>	<b>148.1</b>	<b>155.5</b>	<b>157.8</b>	<b>162.9</b>	<b>167.2</b>
<b>Utilização</b>						
Consumo	133.8	128.1	130.8	136.9	141.5	146.3
Uso não alimentar	22.0	20.0	24.7	20.9	21.4	20.9
Fornecimento de peixe <i>per capita</i> (kg)	18.1	18.5	18.6	19.3	19.7	20.1

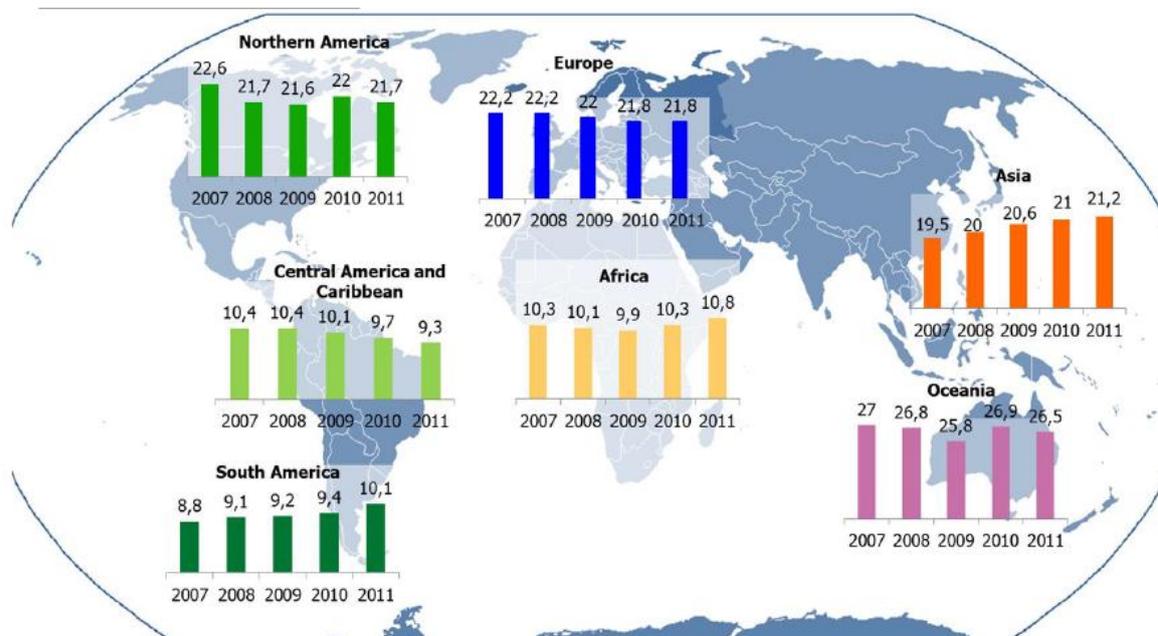
**Nota:** Excluíram-se as plantas aquáticas. Totais apresentados podem não corresponder devido a aproximações.

<sup>a</sup> Informação referente a 2014 corresponde a estimativas provisórias

A nível mundial, o total de capturas em 2014 foi de 93.4 milhões de toneladas, das quais 81.5 milhões foram capturas marinhas (Tabela 1) e visto que em 2012 estas capturas tinham descido de valores, rapidamente elas mostram tendência a aumentar. Da lista dos 25 países com maiores valores de captura (Portugal não entra nesta lista), a China lidera os valores, seguida pela Indonésia, Estados Unidos da América e a Federação Russa. Desta lista encontramos 5 países europeus, sendo que a Noruega ocupa o 10º lugar, Espanha o 18ª, Islândia o 19ª, Reino Unido o 23º e a Dinamarca em 24º (FAO, 2016).

Ainda assim, em 2013 os países membros da EU-28 com o seu total de produção de pescado (em toneladas), destacaram-se ficando em 4º lugar como um dos maiores produtores mundiais de pescado, sendo apenas ultrapassado pela China (1º lugar), Indonésia (2º lugar) e Índia (3º lugar) (EUMOFA, 2015).

**Figura 2.** Consumo mundial per capita (kg, 2007-2011). Adaptado de EUMOFA (2015)



**Nota:** “Europa” inclui os membros da EU-28, Albânia, Belarus, Bósnia e Herzegovina, Islândia, Montenegro, Noruega, República Moldava, Federação Russa, Sérvia, Suíça, Ucrânia.

A verdade é que o aumento significativo no consumo de pescado (Figura 1) parece revelar que existe uma alteração mundial a nível da dieta de forma a torna-la mais diversificada e nutritiva. O pescado é altamente referenciado como um alimento ideal, sendo que a Organização Mundial de Saúde frequentemente destaca os benefícios inerentes ao consumo de peixe. Após diversos estudos extensivos e testes em Humanos, sabemos agora que o consumo de pescado leva à redução de risco de morte por doença coronária e que em mulheres provoca a redução do risco de nascerem crianças com problemas de

desenvolvimento neurológico (FAO/WHO, 2010). O consumo de pescado é também frequentemente referido como um alternativa alimentar para o tratamento de obesidade.

É importante saber que ainda que haja uma atitude positiva relativamente ao aumento do consumo mundial de pescado, devido aos benefícios inerentes a este consumo, é preciso ter em conta que há um lado preocupante e indesejado como a pesca excessiva e o impacto ambiental. A pesca excessiva e a exploração de recursos, principalmente marítimos, tem como previsto uma calamidade ambiental. Efetivamente enfrentamos a possibilidade de que a intensidade atual da atividade da pesca poderá levar à extinção uma série de espécies de grande valor nas cadeias alimentares marítimas. A prática de algumas artes de pesca, como a do arrasto, levam à destruição dos fundos oceânicos (habitat de inúmeras espécies marítimas). Por este motivo a Aquicultura ganhou terreno como uma medida alternativa à pesca. A evolução da Aquicultura tem sido positivamente crescente (Tabela 1) pois fornece ao consumidor as espécies de peixe com maior valor comercial e a preços inferiores. Este crescimento tem sido de tal modo notório que acredita-se que o aumento do consumo mundial de pescado é em grande parte devido ao aumento de unidades de Aquicultura consequentes da crescente procura do consumidor (FAO, 2016).

#### 2.1.1. Em Portugal

Procurando Portugal no Mapa-mundo depressa salta à vista de qualquer observador uma característica sobre o nosso País, que é o fato de grande parte de Portugal Continental fazer fronteira com o Oceano Atlântico. Mais concretamente, quase 950 quilómetros correspondem à medida da costa de Portugal continental (Chagas Duarte, 2004). Não é portanto difícil de imaginar a importância que a fileira do pescado teve na História do País, lugar que ainda ocupa nos dias de hoje. O seu valor faz-se sentir a nível cultural, social, técnico, económico, gastronómico e mais recentemente, mas com um peso cada vez maior, a nível turístico. Portugal é frequentemente referido como sendo um dos maiores consumidores de pescado a nível Europeu, posição justificável pois os produtos da pesca representam quase um quarto da dieta da população portuguesa (Chagas Duarte, 2004).

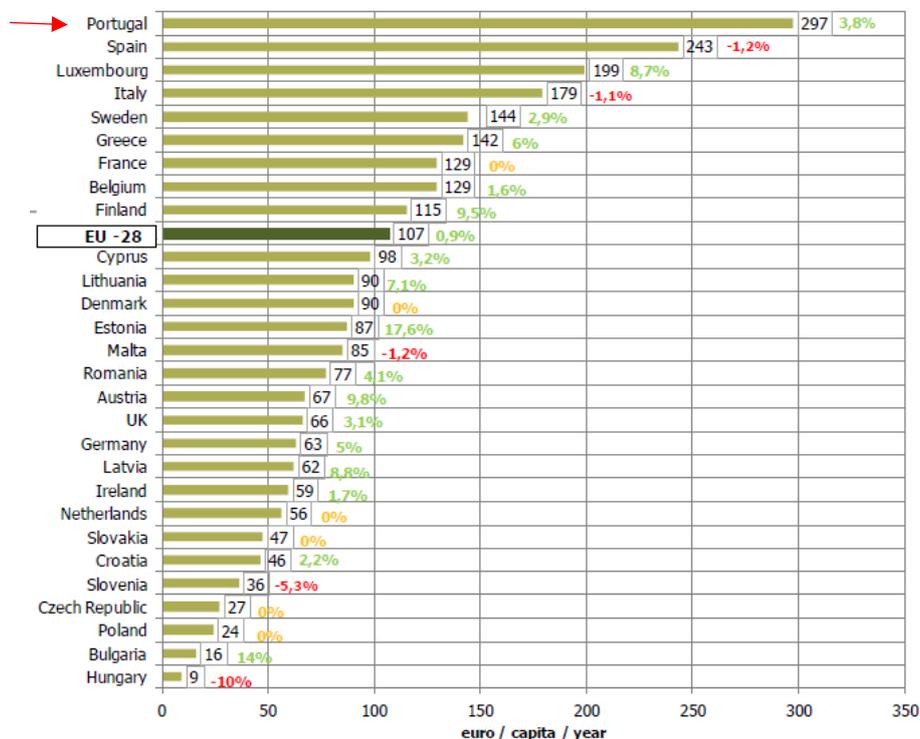
Com a influência da igreja católica na cultura portuguesa, a população criou um regime alimentar onde predomina o peixe ao longo do ano. Com os Descobrimientos surgiu uma revolução a nível das artes de pesca e o aparecimento de novas espécies de pescado para a população portuguesa, sendo o bacalhau um bom exemplo. Relativamente às espécies de pescado tradicionalmente mais consumidas, como a sardinha, o atum e a cavala, estas potenciaram a criação de infraestruturas base que permitiram o aparecimento e

desenvolvimento da indústria de Transformação, nomeadamente de conservas, que se tornaram um marco de valor histórico, sociocultural e económico para as comunidades que se instalaram em redor dos portos distribuídos ao longo da costa de Portugal (Chagas Duarte, 2004). Eventualmente, e com o aumento do mercado dos produtos da pesca, observou-se um afastamento da localização das unidades de transformação e conservas que foi paralelo à evolução das redes de transportes e de armazenagem. Consequentemente criaram-se novos processos de armazenagem nos quais o produto passa por um processo de congelação e pode manter as suas propriedades desejadas por largos períodos de tempo, permitindo criar ligações comerciais internacionais. Com a globalização deste mercado surgiu uma pressão competitiva sobre as empresas de transformação e conservas, o que por sua vez aumentou as exigências de quantidade e qualidade de produtos e de capacidade de resposta aos pedidos do mercado. Efetivamente as exigências de produtos da pesca a nível mundial tornaram-se difíceis de responder unicamente utilizando a pesca como único recurso, já que os recursos marinhos são insuficientes, o que levou ao aparecimento de uma nova fonte de produto, a Aquicultura.

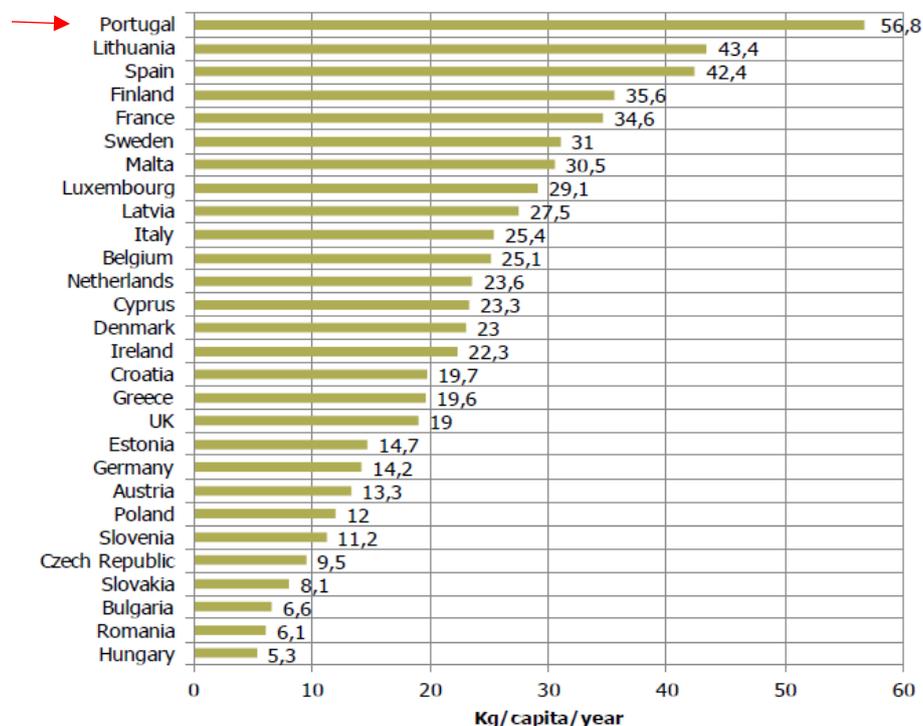
Podemos ver então como o sector das pescas cresceu e evoluiu, criando a designada fileira do pescado que se inicia na captura do pescado ou na unidade de aquicultura. Destas fontes os produtos da pesca podem passar por diferentes subsectores da Indústria Transformadora que são reconhecidos na Classificação das Atividades Económicas (CAE) como: o subsector das Conservas e Semiconservas em Molhos, também designado como das **Conservas**; o subsector da Salga e Secagem de Pescado, ou do **Bacalhau**, e o subsector do pescado **Congelado** (Chagas Duarte, 2004).

No contexto europeu Portugal demonstra a importância ocupada pelo pescado nos seus hábitos alimentares sendo que se destacou como um dos países com os maiores consumos de produtos da pesca e de aquicultura em 2013 (Gráfico 1 e Gráfico 2). Nesta perspetiva Portugal registou um valor de compra de produtos da pesca e de aquicultura de 297 euros/capita/ano e um aumento percentual de 3.8%, que é expressivamente maior ao valor médio do EU-28 de 107 euros/capita/ano (EUMOFA, 2015). Não só damos provas deste relevante consumo (Portugal registou um consumo de 56.8 kg/capita/ano em 2011) como também existe um aumento do valor de capturas pela frota portuguesa (EUMOFA, 2015).

**Gráfico 1.** Custos *per capita* por casa, de compra de produtos da pesca e de aquicultura na EU em 2013 e variação percentual 2012/2013 (consumo fora de casa foi excluído). (EUMOFA)



**Gráfico 2.** Consumo *per capita* de pescado e produtos da pesca (kg capita/ano) por Estado Membro em 2011. (EUMOFA)



De acordo com o Instituto Nacional de Estatística, em 2015 foram capturadas 194.164 toneladas de pescado pela frota portuguesa, levando ao aumento de 5.6% na produção nacional, comparativamente com os valores obtidos em 2014 (INE, 2015). Este aumento registado ficou a dever-se à maior captura de peixes marinhos (+ 20.7%; -19.2% em 2014) dos quais se destacaram a cavala e o carapau que registaram maiores valores de captura (+57.2 e +33.7%, respetivamente) (INE, 2015). Contrariando esta mudança a sardinha e o atum, principais peixes utilizados no setor das Conservas, revelaram valores de captura inferiores (-13.2% e -22.6%, respetivamente). Acredita-se que esta redução dos valores de captura no caso da sardinha estarão diretamente ligados à alteração das quotas anuais como medida de gestão deste recurso (INE, 2015). Esta avaliação dos valores de captura são importantes na medida que terão impacto num setor que em 2015 registou um valor de vendas de 898 milhões de euros, refletindo um aumento comparativamente ao ano anterior (INE, 2015).

De uma forma geral o setor do pescado possui peso económico nas importações e exportações em Portugal sendo por isso um setor com potencial para crescer dado o crescimento mundial no consumo de pescado que se destacou nos últimos 2 anos.

## 2.2. Proteção do consumidor

Atendendo a popularidade e papel que o consumo de produtos da pesca tem a nível mundial e nacional, é imprescindível não esquecer os riscos inerentes a este consumo. Os produtos da pesca diferem de várias maneiras dos restantes alimentos de origem animal. A maior parte do pescado consumido é retirado de populações “selvagens” sendo que o pescador não tem nenhuma influência nas características da presa antes de esta ser capturada (Huss, 1994). Ou seja, enquanto no setor das carnes toda a cadeia é influenciada pela interferência e manipulação do Homem, nomeadamente desde a produção até à linha de abate, no setor das pescas esta influência direta não existe.

A indústria transformadora de produtos da pesca vê-se altamente limitada pelo tamanho, qualidade e espécies dos peixes que foram capturados pelo pescador, tendo por isso que criar várias estratégias. Outro fator a ter em conta tem a ver com a génese dos animais utilizados neste setor. Efetivamente é um setor que trabalha com um ser vivo cuja fisiologia e anatomia em nada se compara com o das carnes. Como previamente referido, de forma geral o pescado é capturado de um meio designado “selvagem” e dado as suas características fisiológicas considera-se que as características microbiológicas presentes no corpo do peixe

ou do molusco bivalve vão ser o reflexo das características microbiológicas, e consequentemente da contaminação, do meio aquático que habitam (Huss, 1994). Ainda neste âmbito é relevante lembrar que o peixe é um animal de sangue frio, característica que leva à presença de alguns agentes microbiológicos, capazes de provocar doença no Homem, aptos de resistir a alguns tratamentos térmicos (frio). Por este motivo as medidas de proteção do consumidor humano são de uma forma geral mais complexas e dispendiosas na fileira do pescado, exigindo uma maior atenção por parte das autoridades competentes e dos operadores. Uma importante arma na proteção do consumidor é a utilização do plano HACCP.

### 2.2.2. O Plano HACCP

O HACCP é a sigla utilizada para representar o plano “Hazard Analysis Critical Control Points” ou plano de Análise de Perigos e Pontos Críticos Controlo. No final da década de 60, a companhia americana Pillsbury em cooperação com a NASA (National Aeronautics and Space Administration) e o Exército Americano, desenvolveram o HACCP no âmbito do projeto APOLO, de forma a criar técnicas seguras de fornecimento de alimentos aos astronautas (ASAE, 2007). O plano passou a ser aplicado na Indústria Conserveira Americana nos anos 70 e o seu sucesso foi tal que levou a que em 1980 a OMS/FAO sugerissem a sua utilização nas restantes empresas de modo a garantir a segurança dos produtos (ASAE, 2007). Em 1993, o HACCP passou a fazer parte da regulamentação europeia com base nos princípios descritos no Codex Alimentarius, através da Diretiva 93/43/CEE que foi revogada em 2006 pelo Regulamento (CE) n.º 852/2004, relativo à higiene dos géneros alimentícios, que estipula que todos os operadores do sector alimentar devem criar, aplicar e manter um processo permanente que utilize como base os princípios do plano HACCP. (ASAE, 2007)

O plano HACCP tem como base uma metodologia preventiva cujo objetivo é evitar os potenciais perigos que possam representar riscos para os consumidores, entendendo-se assim por perigo “qualquer agente biológico, químico ou físico presente em géneros alimentícios ou nos alimentos para animais, ou uma condição dos mesmos, com potencialidades para provocar um efeito nocivo para a saúde” (Regulamento (CE) n.º 178/2002). Esta prevenção é praticada através da eliminação ou redução dos perigos de modo a que o consumidor não tenha acesso a alimentos não seguros. Ao consultar o Regulamento (CE) n.º 178/2002, atesta-se que os géneros alimentícios não são considerados seguros se se entender que podem ser prejudiciais à saúde ou que são impróprios para consumo humano. Podemos considerar, de uma maneira mais simplificada, que o plano HACCP se destina a aplicar princípios técnicos e científicos na produção e manipulação de géneros alimentícios do “prado até ao prato”, ou seja, vai envolver uma série de etapas ou

princípios que permitam identificar e priorizar todos os potenciais perigos à segurança alimentar. Este processo ao ser aplicado à produção, transformação e transporte de alimentos deve garantir a segurança de géneros alimentícios, considerando todos os aspetos da cadeia alimentar na sua continuidade, desde a produção primária e a produção de alimentos para animais até à venda ou fornecimento de géneros alimentícios ao consumidor (Regulamento (CE) n.º 178/2002; Regulamento (CE) n.º 852/2004). No entanto no setor das pescas associado à captura de exemplares selvagens, é impossível aplicar estes princípios técnicos e científicos na fase de produção primária.

No âmbito do plano HACCP e como um guia resumido para que os operadores possam saber como colocar em prática este plano, elaborou-se uma lista de 7 princípios. Cada princípio desta lista deve ser praticado de modo a obter o objetivo do plano HACCP.

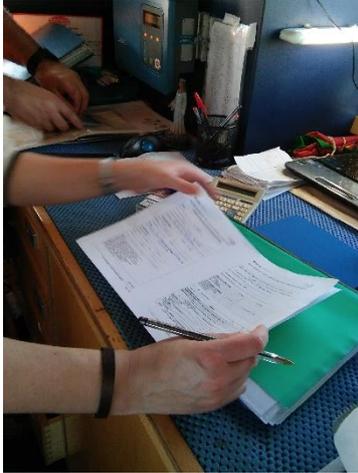
Enumero resumidamente os princípios (ASAE, 2007):

1. Identificar perigos e medidas preventivas;
2. Identificar pontos críticos de controlo (PCC);
3. Estabelecer limites críticos para cada medida associada a cada PCC;
4. Monitorizar/Controlar cada PCC;
5. Estabelecer medidas corretivas para cada caso de limite em desvio;
6. Estabelecer procedimentos de verificação;
7. Criar sistema de registo para todos os controlos efetuados.

### 2.2.3. O papel da DGAV

A DGAV é um serviço central da administração direta do Estado cujo objetivo é definir, executar e avaliar políticas de segurança alimentar, de proteção animal e de sanidade animal, proteção vegetal e fitossanidade, possuindo as funções de autoridade sanitária veterinária e fitossanitária nacional e de autoridade responsável pela gestão do sistema de segurança alimentar (DGAV, 2016).

De acordo com o Decreto Regulamentar n.º 31/2012 e a demais legislação relativa, é competência da DGAV coordenar o controlo hígio-sanitário oficial e a inspeção sanitária dos produtos frescos de origem animal para salvaguardar a salubridade dos géneros alimentícios de origem animal. É também função da DGAV de, após rigorosa avaliação, a atribuição do número de controlo veterinário (NCV) que representa o reconhecimento do cumprimento dos requisitos hígio-sanitários pelos estabelecimentos que desenvolvem atividades às quais se aplica o Regulamento (CE) n.º 853/2004 (Figura 3).



**Figura 2.** Controlo oficial de embarcações no âmbito do plano de controlo realizada pelo DGAV. Foto de Matilde Matos.



**Figura 3.** O Médico Veterinário Oficial avalia a presença/ausência de incumprimentos na lota. Foto de Matilde Matos.

Ainda no Decreto Regulamentar previamente referido encontram-se indicadas as funções de coordenar a elaboração do Plano Nacional de Controlo Plurianual Integrado e coordenar, auditar e colaborar na execução dos diversos planos de controlo oficial (Figura 2) pelas direcções regionais de agricultura e pescas no âmbito das suas competências. Foi neste quadro de funções, mais especificamente no âmbito do sector do pescado, que observei as atividades realizadas entre setembro e janeiro. Dentro destas atividades foi possível acompanhar a realização de planos de controlo em diferentes fases da fileira do pescado, sendo estes:

- PACE - Plano de Aprovação e Controlo de Estabelecimentos (controlos oficiais a estabelecimentos de primeira venda de pescado (lota), mercados grossistas, navios congeladores e navios fábricas)
- PCON - Plano de Controlo Oficial dos Navios (controlos oficiais a embarcações)
- PIGA - Plano de Inspeção de Géneros Alimentícios (recolha de amostras de histamina em estabelecimentos da Indústria Conserveira)
- PNPR - Plano Nacional de Pesquisa de Resíduos (recolha de amostra de pescado em lota)

É portanto da obrigação do Médico Veterinário oficial ter sempre em mente a legislação mais importante e relevante (Tabela 2) para o desempenho das suas tarefas durante o controlo hígio-sanitário, na lota, ou durante as visitas oficiais a outros estabelecimentos da fileira do pescado.

**Tabela 2.** Legislação suporte para o desempenho geral de funções como Médico Veterinário Oficial da DGAV

Legislação	Conteúdo
<u>Regulamento (CE) n.º 178/2002</u> do Parlamento Europeu e do Conselho de 28 de janeiro de 2002	Determina os princípios e normas gerais da legislação alimentar, cria a Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos e estabelece procedimentos em matéria de segurança de géneros alimentícios
<u>Regulamento (CE) n.º 882/2004</u> do Parlamento Europeu e do Conselho de 29 de abril de 2004	Relativo aos controlos oficiais realizados para assegurar a verificação do cumprimento da legislação relativa aos alimentos para animais e aos géneros alimentícios e das normas relativas à saúde e a bem-estar dos animais
<u>Regulamento (CE) n.º 852/2004</u> do Parlamento Europeu e do Conselho de 29 de abril de 2004	Relativo à higiene dos géneros alimentícios
<u>Regulamento (CE) n.º 853/2004</u> do Parlamento Europeu e do Conselho de 29 de abril de 2004	Estabelece as regras específicas de higiene aplicáveis aos géneros alimentícios de origem animal
<u>Regulamento (CE) n.º 854/2004</u> do Parlamento Europeu e do Conselho de 29 de abril de 2004	Estabelece regras específicas de organização dos controlos oficiais de produtos de origem animal destinados ao consumo humano

Frequentemente é colocada a questão do lugar dos Moluscos Bivalves na fileira do pescado e qual o papel da DGAV relativamente a estes produtos. De acordo com Regulamento (CE) n.º 853/2004, entende-se que “produtos da pesca” são “ todos os animais marinhos ou de água doce (exceção dos moluscos bivalves, equinodermes, tunicados e gastrópodes marinhos vivos e de todos os mamíferos, répteis e rãs), selvagens ou de cultura, incluindo todas as formas, partes e produtos comestíveis desses animais”, ou seja, os

moluscos bivalves vivos não são produtos da pesca do ponto de vista regulamentar sendo que, só depois de ocorrer transformação (congelação, conserva) é que passam a ser denominados por produtos da pesca. Sendo assim as atividades praticadas relativamente à captura e depuração não foram acompanhadas no decorrer do estágio realizado. Efetivamente poderia surgir a oportunidade de interagir com estes produtos aquando de visitas oficiais realizadas em estabelecimentos da indústria transformadora mas tal não se proporcionou.

### 2.3. Perigos no Pescado

Considerando que o consumo de peixe é importante para manter uma dieta equilibrada e saudável, é razoável entender que a tarefa de controlo de qualidade e a deteção de perigos revelam-se da maior importância. Os perigos inerentes ao consumo de pescado são diretamente dependentes de certas características como a espécie do peixe, o seu tamanho (diretamente relacionado com a idade), origem do pescado, quantidade e modo de apresentação do produto consumido (FAO/WHO, 2010).

Os perigos podem ser reunidos em três grupos diferentes: os perigos físicos, perigos biológicos e químicos.

Após estudos sobre esta matéria, entende-se que de forma geral a maior parte dos elementos considerados contaminantes, e conseqüentemente perigos para o consumidor, que podem ser encontrados no pescado têm origem predominantemente da dieta do animal, ainda que se reconheça que as guelras também permitam a sua entrada. Sendo assim considera-se que quando maior o nível em que o animal se encontra na cadeia alimentar, maiores serão os perigos inerentes ao seu consumo (FAO/WHO, 2010).

De acordo com o Regulamento (CE) n.º 178/2002, as responsabilidades relativas a “assegurar em todas as fases da produção, transformação e distribuição nas empresas sob o seu controlo, que os géneros alimentícios ou alimentos para animais preencham os requisitos da legislação alimentar aplicáveis às suas atividades e verificar o cumprimento desses requisitos” (Artigo 17.º, Secção 4; Capítulo II) recaem na totalidade ao operador do estabelecimento. Ou seja, é portanto o operador que terá de desempenhar o papel de assegurar que os produtos da pesca não representam perigo ao consumidor. Sendo assim, o operador deverá utilizar as ferramentas que dispõe para realizar atividades de auto-controlo (ex. análises aos lotes de produtos, formação e avaliação de trabalhadores, atestados médicos atualizados), sendo que a DGAV neste aspeto desempenha o papel de entidade fiscalizadora dos estabelecimentos e da sua atividade.

### 2.3.1. Perigos Físicos

Neste grupo de perigos encontramos os perigos relacionados com a presença de corpos estranhos no pescado que tendem a estar diretamente relacionados com as atividades desenvolvidas durante a captura e a sua manipulação após captura. Nestes perigos podemos considerar a presença de anzóis ou outro material de pesca (Figura 4), lascas de madeira ou de tinta, conchas, pedras e espinhas, fragmentos de vidro/plástico/tinta, entre outros. De forma geral são materiais suscetíveis de causar ferimentos (lacerações ou traumatismos no trato gastrointestinal) ou asfixia (FDA 2011).

#### 2.3.1.1. Decisão Sanitária

De uma forma geral estes perigos físicos são facilmente controláveis se a manipulação e inspeção visual do pescado for executada corretamente. Estes potenciais riscos estão controlados se os estabelecimentos mantiverem em práticas os requisitos exigidos no Regulamento (CE) n.º 852/2004 e Regulamento (CE) n.º 853/2004.

No Regulamento (CE) n.º 852/2004 o operador do estabelecimento encontra referência aos cuidados relativamente à composição e infraestrutura do seu estabelecimento de modo a evitar o aparecimento de contaminações ou perigos físicos durante o processamento do produto. Cabe apenas à DGAV realizar visitas oficiais periódicas aos estabelecimentos e verificar/avaliar o cumprimento dos requisitos exigidos por este Regulamento nesta matéria.



**Figura 4.** Presença de material (seta) de pesca num tubarão espinhoso (*Squalus acanthias*). Foto de Matilde Matos.

### 2.3.2. Deterioração do pescado

Á deterioração do pescado pode estar associado a presença de perigos biológicos e químicos. Para combater a deterioração dos alimentos o Homem tem como principal aliado a refrigeração de produtos da pesca. No entanto ao longo dos tempos foram desenvolvidas outras formas de conservação (ex. congelação, salga, marinada) para que lhe fosse possível alimentar-se em períodos de escassez de alimentos, mas por vezes estes métodos podem alterar os aspetos organoléticos podendo tornar os produtos da pesca menos desejáveis. Naturalmente para sobreviver, o Homem desenvolveu os seus sentidos (olfato, tato, paladar e visão) de modo a reconhecer sinais da deterioração dos alimentos e assim não correr riscos. O tecido muscular do pescado é muito rico em proteínas e substâncias como aminoácidos, creatinina e OTMA (óxido de trimetilamina), mas muito pobre em hidratos de carbono. Ainda que esta constituição o torne um alimento de eleição para uma dieta mais saudável, é esta mesma constituição que leva a que o processo de deterioração seja mais rápido (Huss, 2003).

Considera-se que no *post mortem* o pescado sofre 4 tipos de alterações que podem ser simplesmente classificadas em: sensoriais, químicas, físicas e microbiológicas (Tabela 3) (Vaz-Pires, 2006). Destas alterações apresentadas, a multiplicação de microrganismos é considerado um dos principais responsáveis pela degradação dos alimentos e é na sua prevenção que os métodos de conservação de produtos da pesca se focam principalmente. Todas estas alterações estão interligadas ao ponto que as alterações sensoriais acabam por ser o resultado da soma de todas as outras (Vaz-Pires, 2006).

O desenvolvimento das alterações leva à formação de compostos, à multiplicação bacteriana e a alterações físicas que não só geram repugnância e conseqüente recusa do pescado, como também podem favorecer o aparecimento de riscos para a saúde do consumidor, alguns dos quais serão referidos ao longo deste trabalho.

A deterioração do pescado é portanto um fenómeno complexo no qual uma série de acontecimentos diferentes ocorrem simultaneamente e que se influenciam mutuamente (Vaz-Pires, 2006). Este fenómeno tem início no momento da morte, com a paragem do sistema circulatório levando à perda de fornecimento de oxigénio e outros compostos essenciais para o funcionamento normal do organismo vivo. Ainda que estas alterações *post mortem* ditam a forma como o processo de degradação decorre, este ainda pode ser influenciado por factores que ocorreram no *ante mortem* (ex. stresse, doença, parasitismo). Alguns dos acontecimentos mais importantes que ocorrem no *post mortem* estão relacionados com o ATP, glicogénio e açúcares.

**Tabela 3.** Alterações que ocorrem no *post mortem* e características associadas (Vaz-Pires 2006)

Alterações	Características
Sensoriais	Detetadas pelos órgãos dos sentidos Ex: cheiro ranço, olhos leitosos, guelras castanho escuro com muco leitoso
Químicas	Degradação e formação de compostos no <i>post mortem</i> ; Serve de indicador de qualidade (ABVT e ATMA).
Físicas	Verificam-se em parâmetros físicos como: - resistência eléctrica dos tecidos, - rigidez <i>post mortem</i> .
Microbiológicas	Desenvolvimento de bactérias aumenta durante a degradação.

O ATP é utilizado como fonte de energia para uma série de reações essenciais para o normal funcionamento do organismo vivo, e aquando da morte, este é gasto rapidamente até níveis que levam ao início do *rigor mortis* (Vaz-Pires, 2006). O glicogénio no músculo dos peixes encontra-se a valores inferiores aos que são encontrados em mamíferos, o que leva a que o pH final presente nestes animais seja mais elevado (Vaz-Pires, 2006). Com a falta de fornecimento de oxigénio aos músculos no *post mortem*, ocorre a degradação do glicogénio predominantemente anaeróbia, que é responsável pela formação de ácido láctico e consequente diminuição do pH. A diminuição dos valores de pH no músculo ainda que levem à redução do desenvolvimento bacteriano, são também responsáveis pela perda de capacidade de retenção de água pelas proteínas musculares, o que leva a alterações indesejáveis na textura e consistência do músculo (Vaz-Pires, 2006) (Figura 5 e 6).



**Figura 5.** Avaliação da Frescura em atum (*Thunnus* spp). (Lota Matosinhos). Foto de Matilde Matos

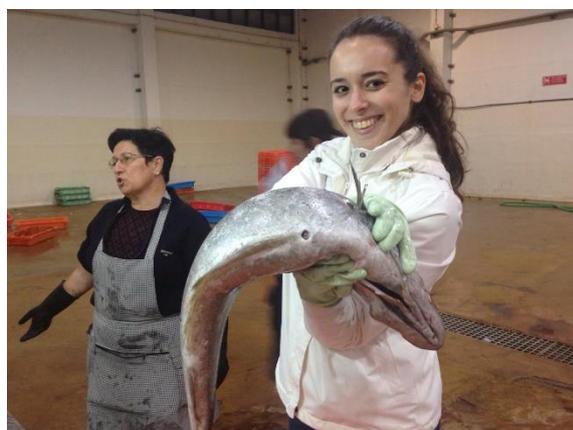


**Figura 6.** A permanência da pressão feita revela perda de consistência muscular em atum (*Thunnus* spp). (Lota Matosinhos). Foto de Matilde Matos

Em animais aquáticos existem mecanismos *ante mortem* que os defendem da ação das suas próprias enzimas (Vaz-Pires, 2006). As enzimas produzidas pelo próprio pescado ou por microrganismos que nele existem, são responsáveis pela degradação dos alimentos ingeridos. Para defender os tecidos do trato digestivo da ação destas enzimas existem mecanismos de defesa do próprio organismo que atuam em casos de invasão. Aquando da morte do pescado, estes mecanismos de defesa deixam de funcionar permitindo que as enzimas presentes sejam capazes de realizar a digestão e invasão dos tecidos. Este processo designa-se de autólise (Vaz-Pires, 2006). As alterações por autólise são responsáveis pela perda inicial da qualidade da carne do pescado mas ainda assim pouco influenciam na velocidade de degradação geral. Na realidade, este processo tem um impacto maior relativamente ao desenvolvimento de odores desagradáveis e alterações de cor e de textura da carne devido à ação das enzimas no peixe que não é eviscerado (Huss, 1995). É por isso que se considera uma medida muito importante a evisceração, não só por causa dos efeitos resultantes da autólise como também porque ao haver digestão dos tecidos do trato digestivo eventualmente ocorre a perda de estanquicidade das paredes intestinais, permitindo a dispersão de bactérias presentes nos intestinos. Esta dispersão e contaminação do organismo é uma das principais causas para o desenvolvimento de sinais de putrefação no pescado (odor desagradável, muco leitoso-amarelado, alteração de cor e textura).



**Figura 7.** Comparação do grau de frescura através da avaliação de *rigor mortis* / dois exemplares de atum (*Thunnus* spp.). (Lota de Matosinhos). Foto de Matilde Matos



**Figura 8.** Pescada (*M. merluccius*) com perda total do rigor mortis (Lota Matosinhos). Foto de Matilde Matos



**Figura 9.** Ruivo (*Trigla* spp.) em rigor mortis (Lota Matosinhos). Foto de Matilde Matos

Para além das proteínas no pescado, existe o azoto não proteico que é responsável em grande parte pelo sabor característico de produtos da pesca. O azoto não proteico corresponde a um grupo de compostos dos quais se salientam o óxido de trimetilamina (OTMA), amónia, creatinina, aminoácidos livres, nucleótidos, bases púricas e ureia (em peixes cartilagíneos) (Huss, 1995). De todos estes compostos um dos mais importantes é o OTMA. Este composto é veiculado pela alimentação e é encontrado em elevadas concentrações nos

peixes pelágicos como a sardinha, o atum e o carapau, que caracteristicamente têm valores elevados de OTMA no músculo escuro. Peixes demersais também possuem OTMA mas com valores mais baixos (Huss, 1995). No *post mortem* as bactérias de forma a favorecer o seu crescimento num ambiente com pouco oxigénio, reduzem o OTMA para realizar respiração anaeróbia (Huss, 1995). Quanto maior o desenvolvimento bacteriano no pescado, maior é a redução de OTMA. Por este motivo, utiliza-se a análise dos valores de azoto de trimetilamina (ATMA) e de azoto básico volátil total (ABVT) para dar informações quanto ao grau de degradação e desenvolvimento bacteriano.

Para melhor avaliar o grau de desenvolvimento dos fenómenos (químicos, físicos e microbiológicos) responsáveis pelos efeitos *post mortem* no pescado, foram desenvolvidos critérios de avaliação quanto ao grau de frescura do pescado. Esta avaliação ocorre através da análise sensorial/organoléptica e da análise laboratorial de compostos que são considerados indicadores de qualidade no pescado (ABVT e ATMA).

As primeiras alterações sensoriais que refletem o fenómeno de deterioração do pescado, são perceptíveis através dos sentidos. De todas estas alterações a mais notória é o *rigor mortis*. O *rigor mortis* ou rigidez cadavérica corresponde a um período *post mortem* no qual ocorre contração muscular em todos os tecidos musculares, cuja duração irá depender da espécie, tamanho, método de pesca, tipo de estiva, temperatura e condição física do pescado ao morrer (Vaz-Pires, 2006). O *rigor mortis* (Figura 7) é um dos factores mais relevantes na avaliação de frescura do pescado na lota pois, na presença de contração muscular irreversível, o Médico Veterinário Oficial sabe que está perante um bom grau de frescura (Figuras 8 e 9).

Seria de esperar, para um indivíduo leigo, que o melhor sinal de frescura no pescado seria ver o peixe ainda vivo, mas percebendo as alterações *ante* e *post mortem* sabe-se que pescado vivo na lota pode ser depreciativo comparativamente a pescado em *rigor mortis*. O motivo para tal insere-se no facto de que no decorrer de uma morte lenta, o esforço do peixe vai progressivamente levar ao esgotamento das suas reservas de glicogénio até que, ao morrer, o músculo anaeróbico é incapaz de manter valores normais de ATP e entra em rigor (Huss, 1995). Em peixes que sofreram altos níveis de stresse *ante mortem*, os níveis de pH e ácido láctico (que potenciam a deterioração do pescado) são maiores do que nos peixes que morreram rapidamente. Ainda que um peixe vivo não oferece qualquer dúvida quanto à sua frescura, este factor vai ter relevância na validade ou no período de vida útil do produto ou seja na qualidade. A influência do stresse *ante mortem* reflete-se muito na forma de captura do pescado pois o período de *rigor mortis* é tanto maior quanto menor for o tempo de arrasto (se este tiver sido o método de captura), mais imediato for o sacrifício e mais rápida for a refrigeração. Por este motivo, aquando da inspeção na lota, o responsável qualificado pela avaliação do grau de frescura e o Médico Veterinário Oficial deverão ter em atenção se o grau de deterioração em que o pescado poderá se encontrar não estará de acordo com o método de pesca utilizado. No caso da pesca artesanal, o pescado vem frequentemente vivo para a lota logo não gera dúvidas quanto à sua frescura. No caso da pesca do arrasto, o pescado tende a vir com um aspeto menos apreciado do que o pescado do cerco pois durante o arrasto, o peixe encontra-se preso às redes durante quilómetros sofrendo grandes níveis de stresse *ante mortem* e se morrer durante o arrasto poderá sofrer fenómenos de degradação ou de parasitismo até à sua captura. No caso da pesca do cerco o tempo de apanha é rápido e portanto o peixe frequentemente é encontrado na lota em estado de *rigor mortis*.

#### 2.3.2.1. Decisão Sanitária

A inspeção do pescado é realizada em lotes. A designação de “lote” é utilizada para indicar determinada quantidade de produtos da mesma espécie, sujeitos ao mesmo tratamento e que possam ser provenientes do mesmo pesqueiro (local onde foram realizadas as capturas) e do mesmo navio. No Regulamento (CE) n.º 2406/96 encontram-se disposições relativas às categorias de frescura indicando que estas categorias são determinadas para cada lote em função do grau de frescura do produto. Para saber o grau de frescura são fornecidas no Anexo I deste Regulamento, as tabelas de cotação de frescura estabelecidas em função de critérios de aplicação específicos a produtos agrupados em: peixes brancos, peixes azuis, esqualos, cefalópodes e crustáceos. De uma forma geral os critérios a avaliar nestas tabelas estão relacionados com a aparência da pele, olhos, guelras (cor e cheiro), peritoneu (no peixe eviscerado), muco cutâneo, coloração, órgãos e carne. Com base nestas tabelas, os produtos

são classificados em lotes correspondentes a uma destas categorias: Extra (E), A ou B. No caso dos crustáceos, estes são classificados apenas em Extra ou A. De acordo com o Artigo 5.º das Categorias de Frescura do Regulamento (CE) n.º 2406/96, os lotes devem ser homogêneos quanto ao estado de frescura excetuando nos casos em que um lote pequeno pode não ter grau de frescura homogêneo, sendo neste caso classificado na frescura mais baixa que nele é observada. A maioria do pescado comercializado em lota é classificado como tendo grau de frescura E ou A e algum peixe pode ser B por ser inferior em termos de frescura ou por apresentar marcas de pressão, escoriações, manchas ou descoloração em consequência de manuseamento incorreto. O pescado proveniente do cerco costeiros é de modo geral de grau E ou A. Na pesca com armadilhas o pescado chega a bordo praticamente vivo pelo que, por ser tão próximo da costa, o grau de frescura geralmente é E. Na captura com redes de emalhar de um pano, tresmalho e palangre há uma maior variação de frescura mas ainda assim são muitas vezes classificados como E ou A. O pescado de arrasto tende a ser classificado de A. A responsabilidade de verificar se o cumprimento da classificação do pescado decorre corretamente é do operador que coloca os produtos no mercado. Ele deverá ser capaz de recorrer aos seus conhecimentos e experiência profissional para determinar se a qualidade do pescado é aceitável para venda e rejeitar o pescado que apresenta características que sejam consideradas de risco para a saúde do consumidor. Deste modo, é da função do Médico Veterinário Oficial destacado, verificar se o operador responsável trabalha de acordo com os requisitos exigidos.

Relativamente à análise de valores de ATMA e ABVT como indicadores de qualidade, é da responsabilidade dos operadores de estabelecimentos do setor alimentar realizar análises periódicas aos lotes como forma de controlo. Nas regras dispostas no Regulamento (CE) n.º 853/2004, é da obrigação dos operadores de empresas do setor alimentar garantir o cumprimento dos critérios microbiológicos adotados nos termos do Regulamento (CE) n.º 852/2004. Dentro destes critérios para além de os operadores estarem obrigados a efetuar o exame organolético dos produtos da pesca assegurando que os produtos cumprem todos os critérios de frescura, como também, em caso de produtos da pesca não transformados, não poderão ser colocados no mercado se os exames químicos revelarem valores acima dos limites permitidos de ABVT ou de ATMA.

### 2.3.3. Perigos Biológicos

#### 2.3.3.1. Bactérias Patogénicas

Ainda que haja bacterioses de peixes de carácter zoonótico que provocam infeção do Homem pelo contato direto, como em situações de manuseamento do pescado, estas podem ser consideradas doenças ocupacionais que decorrem tanto no pescador como no funcionário da linha de produção da fileira do pescado, não sendo por isso salientadas neste estudo. Algumas das bactérias associadas a doenças relacionadas com o consumo de pescado podem ser divididas em dois grupos (Tabela 4). Sendo que as bactérias são diretamente relacionadas com infeção ou doença no Homem (Tabela 4), criou-se a necessidade de criar uma série de medidas adequadas e rigorosas, tanto após a captura como durante o processamento, de modo a proteger o consumidor (Vaz-Pires, 2006). Persiste uma atenção dedicada a estas bactérias devido à sua ação no desenvolvimento de doenças potencialmente perigosas para a saúde do consumidor. Assim com exemplo podemos salientar a ação da bactéria *Vibrio cholerae* (Tabela 4), que é o agente da cólera, doença altamente contagiosa caracterizada por intensa diarreia aguda, vómitos e desidratação, podendo levar à morte em casos severos ou se não houver tratamento adequado (Novotny *et al.*, 2004).

Estas bactérias e o seu potencial patogénico podem ser controladas através de medidas de controlo de temperatura, manuseamento e até mesmo durante a confeção dos alimentos. A temperatura e o pH apresentam-se como factores limitantes do crescimento destas bactérias em produtos da pesca podendo portanto ser usados em processos como a pasteurização e o tratamento térmico (Whipple and Rohovec, 1994).

**Tabela 4.** Algumas das bactérias patogénicas presentes no pescado (Adaptado de Huss, 1994 e Novotny *et al.*,2004)

	<b>Bactérias</b>	<b>Sintomas</b>
<b>Endógenas (Grupo 1)</b> naturalmente presentes no pescado	<i>Clostridium botulinum</i>	Náusea Vómitos Sinais neurológicos (visão desfocada ou dupla, enfraquecimento ou paralisia) Morte
	<i>Vibrio sp.</i>	Diarreia moderada a aguda
	<i>V. cholerae</i>	Intensa diarreia aguda Vómitos Desidratação Morte
	<i>V. parahaemolyticus</i>	Gastroenterite aguda auto-limitante Septicemia (raro)
	Outros vibrios ( <i>V. vulnificus</i> , <i>V. hollisae</i> , <i>V. furnsij</i> , <i>V. mimicus</i> , <i>V. fluvialis</i> )	Septicemia ( <i>V. vulnificus</i> ) Gastroenterite
	<i>Aeromonas hydrophila</i>	Doença Entérica Septicémia (fatal)
	<i>Plesiomonas shigelloides</i>	Diarreia severa por curto tempo
	<i>Listeria monocytogenes</i>	Septicemia Morte fetal
<b>Exógenas (Grupo 2)</b> contaminação por manipulação humana ou contacto com superfícies/objetos contaminados	<i>Salmonella sp.</i>	Diarreia Dor abdominal Febre Náusea e Vómitos
	<i>Shigella</i>	Diarreia modera a disenteria (fezes sanguinolentas, muco) Desidratação Febre alta Dor abdominal
	<i>E. coli</i>	Gastroenterite
	<i>Staphylococcus aureus</i>	Gastroenterite grave

#### 2.3.3.1.1. Decisão Sanitária

Na perspetiva de evitar a contaminação e desenvolvimento de bactérias patogénicas endógenas e exógenas cabe aos operadores de estabelecimentos quer em terra ou mar manter em prática as exigências referidas nos regulamentos, nomeadamente no Regulamento (CE) n.º 852/2004 e Regulamento (CE) n.º 853/2004. É imperativo que se tomem todas as medidas necessárias relativas à manipulação, armazenagem, transporte e embalagem que impeçam o desenrolar do processo de degradação ou possíveis contaminações dos produtos da pesca. Torna-se portanto imprescindível a posse de um adequado sistema HACCP e a sua correta aplicação prática associada à presença de boas práticas de higiene e a realização de medidas de auto-controlo. Destaca-se a importância da realização de visitas oficiais periódicas e a execução dos planos oficiais de controlo a todos os estabelecimentos onde ocorra manipulação ou interferência direta com o produto por partes das autoridades competentes para fiscalizar estas atividades.

A aplicação de medidas preventivas relativamente à contaminação e desenvolvimento por parte de bactérias passa por todas as fases da fileira do pescado. No caso do desenvolvimento de bactérias endógenas, este encontra-se muitas vezes relacionado com a evolução da deterioração do pescado pois é potenciado por processos químicos associados à presença destas bactérias. Para além de garantirem o cumprimento dos critérios microbiológicos descritos no Regulamento (CE) n.º 852/2004, mostra-se crucial por parte dos operadores conhecer os parâmetros de frescura do pescado e saber realizar uma avaliação correta das propriedades organolépticas dos produtos da pesca, de acordo com o Regulamento (CE) n.º 853/2004. O cumprimento dos requisitos associados a lavagem de produtos com água do mar limpa, condicionamento, armazenagem, transporte de produtos da pesca e controlo de pragas (aves, roedores, insetos) descrito no regulamento referido, apresenta-se também como uma forma de assegurar a segurança da saúde do consumidor nesta matéria.

#### 2.3.3.2. Parasitas

De um modo geral a presença de parasitas no peixe é uma situação comum, visto que, a não ser que o peixe venha de uma unidade de aquicultura, este é capturado em meio marinho, ou seja um meio “selvagem”, não havendo por isso meios de desparasitação antes da sua captura/manipulação como acontece no setor das carnes. Ainda assim, a maioria dos parasitas detetados no pescado não revela um verdadeiro perigo ao consumidor humano sendo que geralmente gera uma maior atenção do ponto de vista comercial pois a presença

de parasitas pode muitas vezes criar um aspeto repulsivo no pescado levando à sua rejeição. Comparativamente ao que se constata no pescado, o consumidor frequentemente vê-se informado, através de várias fontes, que deverá prestar especial atenção ao modo de confeção de carne devido aos riscos de infeção parasitária por consumo de carne crua ou mal passada. De uma forma geral esta preocupação não existe relativamente ao consumo de pescado pois o seu consumo é predominantemente associado a algo saudável e ausente de verdadeiros perigos.

Do ponto de vista da presença de parasitas no pescado que vai a leilão na lota, um problema frequentemente observado é a presença de pulga-do-mar no pescado. Este parasita não representa um verdadeiro risco para a saúde do consumidor *per se* mas o risco encontra-se nos efeitos que a sua presença tem no pescado. Durante a captura e conseqüente morte do peixe, a pulga-do-mar fixa-se e não podendo o hospedeiro defender-se, esta começa a alimentar-se (Figura 10). O resultado desta ação é tanto pior quanto mais lentamente decorrer a captura do pescado. A ação da pulga-do-mar potencia o processo de degradação, contaminação e desenvolvimento microbiológico no pescado, e é desta ação que se criam situações de perda de qualidade do produto e aparecimento de risco associado ao seu consumo. É possível encontrar na lota tamboril (*Lophius piscatorius*) com aspeto repugnante devido à carga de parasitismo por pulga-do-mar (Figura 11).



**Figura 10.** A presença de pulga-do-mar (círculo vermelho) leva à perda de qualidade do pescado (despigmentação visível) e à perfuração da pele (setas) permitindo o acesso do parasita às vísceras. Tamboril (*Lophius piscatorius*). Foto de Matilde Matos.



**Figura 11.** Neste caso tamboril (*Lophius piscatorius*) parasitado ficou com um aspeto geral repugnante. Foto de Matilde Matos.

Sabe-se, no entanto, que mais de 50 espécies de parasitas helmintes presentes no peixe e moluscos bivalves estão diretamente relacionadas com o desenvolvimento de doença no Homem (Huss, 1994). Ainda que a maior parte destes parasitas seja rara ou causa apenas ligeiros ferimentos, existe um pequeno grupo que representa perigo de doença no consumidor sendo por isso motivo de preocupação para autoridades a respeito da proteção dos consumidores. Listamos na Tabela 5 alguns dos parasitas de maior importância e mais frequentemente detetados que afetam o pescado.

**Tabela 5.** Parasitas mais frequentes no pescado (Adaptado de Vaz-Pires, 2006)

	Parasitas	Distribuição conhecida
Nematodes	<i>Anisakis simplex</i>	Atlântico Norte
	<i>Pseudoterranova dicipiens</i>	Atlântico Norte
	<i>Angiostrongylus</i> spp.	Ásia, América do Sul, África
Cestodes	<i>Diphyllobothrium latum</i>	Hemisfério Norte
Trematodes	<i>Clonorchis</i> spp.	Ásia
	<i>Opisthorchis</i> spp.	

Todos estes parasitas apresentam ciclos de vida complexos sendo que, ainda que não haja uma transmissão direta de peixe para peixe, existe de facto passagem através de hospedeiros intermediários durante o seu desenvolvimento como os crustáceos e caracóis-do-mar (Huss e Embarek, 2004). Deste modo, os peixes desempenham um papel secundário como hospedeiros intermediários sendo que a maturação sexual do parasita ocorre em mamíferos marinhos que são os hospedeiros definitivos. O ser humano parece ocupar ou papel de hospedeiro acidental ou até mesmo fazer parte deste ciclo, mas para a sua infeção decorrer é necessário que haja a ingestão de hospedeiros intermediários crus ou quase crus (Huss, 1994).

Dos parasitas apresentados (Tabela 5) os Nematodes, especialmente algumas espécies da família Anisakidae, apresentam-se como o grupo que tem chamado mais a atenção relativamente à proteção da saúde do consumidor. Dentro desta família *Anisakis* é considerado o género com maior importância devido ao seu papel como agente etiológico de doença e infeção no Homem (Audicana *et al.*, 2002). Ainda assim algumas espécies de *Pseudoterranova*, como *Pseudoterranova dicipiens*, já foram implicadas em infeções (Adams *et al.*, 1997, Oshima, 1987) enquanto só algumas espécies de *Contracaecum* são apenas consideradas potencialmente infetantes (Vidal-Martinez *et al.*, 1994). Sendo assim *Anisakis*

*simplex* e *Pseudoterranova decipiens* as espécies mais frequentemente associadas a infeção podendo levar a anisakiase humana gástrica ou faríngea, respetivamente (EFSA 210).

#### 2.3.3.2.1. Decisão Sanitária

Uma das coisas que o Médico Veterinário Oficial deverá ter em atenção no âmbito das regras sanitárias é a presença de parasitas. No Regulamento (CE) n.º 853/2004 encontramos a explicação da atitude a tomar perante parasitas em produtos da pesca, sendo que “não poderão colocar no mercado para consumo humano produtos da pesca obviamente contaminados por parasitas.”. A frase utilizada para determinar o factor decisivo que leva à rejeição do pescado parasitado suscita algumas dúvidas pois a ideia de que um peixe está “obviamente contaminado” parece depender da sensibilidade do observador.

De acordo com as medidas de execução relativas à deteção de parasitas descritas no Regulamento (CE) n.º 2074/2005, o exame ou inspeção visual realizado ao pescado na procura de parasitas não pode ser destrutivo e tem de ser realizado por pessoal qualificado, em estabelecimento em terra e nos navios-fábrica, com uma dimensão e frequência em função do risco. Esta inspeção deverá ser efetuada de forma contínua pelo manipulador durante os processos de evisceração manual e durante o corte (posta, filetes). Este regulamento também prevê a realização de inspeções por amostragem e transiluminação. Parece óbvio que um pescado comido por pulga-do-mar ou que apresente abcessos parasitários vá provocar repulsa e consequente rejeição por parte do operador que o avalia. Mas ainda assim, frequentemente foi observado que os operados deixam passar algum deste peixe pois muitos não o consideram “obviamente contaminado”. Cabe ao Médico Veterinário Oficial tomar a decisão durante a inspeção e mesmo para o Médico Veterinário Oficial este ponto pode suscitar algumas dúvidas já que ainda que se possa observar presença de parasitas, se não for exuberante (ao ponto de provocar repulsa) ou não afete as áreas nobres do pescado, maioritariamente nestes casos permite-se que o pescado vá para venda.

No Regulamento (CE) n.º 853/2004 (ponto D; Capítulo III; Secção VIII do Anexo III) encontramos os requisitos relativos a parasitas aplicados a operadores de empresas do setor alimentar que coloquem no mercado produtos da pesca derivados de peixes ósseos ou moluscos cefalópodes. De acordo com este regulamento, todos os produtos de pesca a serem consumidos crus ou marinados, salgados ou submetidos a um tratamento insuficientemente capaz de eliminar o parasita, devem ser submetidos a um tratamento de congelação capaz de eliminar parasitas viáveis com potencial de colocar em risco a saúde do consumidor. Para parasitas não trematodes este tratamento traduz-se na utilização de um dos dois possíveis métodos de congelação (elaborados mais tarde no trabalho), de forma homogénea por todas

as partes do produto. Este tratamento não tem que ser aplicado pelos operadores de empresas do setor alimentar apenas se:

- os produtos tiverem sido submetidos ou venham a ser submetidos a tratamento térmico capaz de eliminar parasitas viáveis, antes do consumo destes produtos;
- no caso parasitas não trematodes, o produto for submetido a um aquecimento a uma temperatura interna de 60° C ou mais, durante no mínimo 60 segundos;
- os produtos foram congelados durante um período suficientemente longo para eliminar parasitas viáveis;
- no caso de virem de capturas em meio natural, mediante autorização da autoridade competente e apresentação obrigatória de dados epidemiológicos que indiquem que os pescadores de origem não apresentam risco sanitário no que diz respeito a presença de parasitas;
- os produtos derivam de unidades de aquicultura que respeitam todos os requisitos descritos neste regulamento.

De forma geral a aplicação destas medidas por parte do operador aparentemente são suficientes para salvaguardar o consumidor de riscos associados a parasitas. Ainda assim e após a inviabilização de parasitas existem outros factores que podem representar problemas para o consumidor, sendo o caso mais comum relacionado com a presença de larvas de *Anisakis* spp. Este assunto é mais tarde desenvolvido.

#### 2.3.3.3. Vírus

Os vírus no ambiente marinho representam a forma de vida mais abundante, chegando mesmo a ser 10 biliões por litro (Lees, 2000), podendo representar um risco para a saúde do Homem aquando do consumo de pescado. Segundo Huss *et al.* (2003), a presença destes vírus em produtos da pesca, resulta da contaminação fecal de origem humana como consequência da contaminação da água, por despejo de esgotos no ambiente marinho, como também devido à contaminação do pescado durante a manipulação deste (Huss *et al.*, 2003).

Embora haja um constante estudo sobre estes vírus, continua a não existir um método de confiança para a sua deteção em alimentos, mas sabe-se que a transmissão de doenças víricas ao Homem aparece principalmente associada ao consumo de moluscos bivalves (Vaz-Pires, 2006). Os vírus mais frequentemente ligados ao desenvolvimento de doença

gastrointestinal ou de hepatite por consumo de pescado inclusive moluscos bivalves são os da Hepatite Tipo A e E, vírus Norwalk, Rotavirus, Astrovirus e Adenovirus (Gram, 2003).

Ainda que os vírus sejam inertes no exterior de células-hospedeiras vivas e portanto não consigam multiplicar-se na água ou no pescado, estes conseguem sobreviver durante longos períodos. A sua transmissão está fortemente ligada ao consumo de moluscos bivalves pela capacidade de filtração. Ao filtrar grandes quantidades de água, estes moluscos tendem a concentrar em si, os vírus presentes nas águas que habitam (Huss, 1994).

#### 2.3.3.3.1. Decisão Sanitária

Como os perigos estão diretamente associados à contaminação dos produtos após a sua captura e ao longo da fileira do pescado, a melhor arma é a prevenção. Deste modo torna-se da máxima importância a aplicação constante de medidas de higienização do espaço físico com uso de produtos de higienização legais e a utilização de boas práticas de higiene por parte dos operadores, especialmente os manipuladores.

Da parte da DGAV a sua ação nesta matéria resume-se à avaliação e fiscalização dos estabelecimentos na matéria da higiene e aplicação das medidas exigidas pelos Regulamentos (CE) n.º 852/2004 e Regulamento (CE) n.º 853/2004, com especial ênfase à verificação da documentação arquivada e atualizada, referente ao estado de saúde de todos os trabalhadores que tenham contato com os produtos destinados a consumo humano.

#### 2.3.4. Perigos químicos

Dentro deste grupo encontramos substâncias químicas consideradas contaminantes que ainda que sejam importantes de ter em conta para proteção do consumidor, figuram uma posição de baixa importância estatística relativamente às doenças provocadas por consumo de produtos da pesca (Huss, 2003). Os contaminantes químicos podem ser agrupados de acordo com a sua origem:

- Orgânicos: dioxinas, policlorados (PCB's), hidrocarboneto halogenados, inseticidas;
- Inorgânicos: arsénio, cádmio, chumbo, mercúrio, selénio, zinco, cobre e ferro.

A contaminação de produtos da pesca com estas substâncias pode ocorrer de diversas formas. O próprio ato de higienização em estabelecimentos do setor alimentar pode

representar riscos de contaminação com detergentes e desinfetantes se as indicações e regras de utilização do fabricante do produto de limpeza, não forem seguidas corretamente.

Os compostos inorgânicos referidos estão no meio aquático devido a fenómenos naturais (vulcanismo marinho, fenómenos geológicos e geotérmicos) ou têm origem da poluição aquática pelo Homem devido a despejos da indústria metalúrgica, exploração mineira, depósitos de lixo, inceneração de produtos, chuvas ácidas e atividade industrial (Vaz-Pires, 2006). A questão importante na contaminação de pescado com estas substâncias reside principalmente no facto da contaminação do pescado ter origem na dieta do animal, e até mesmo através da entrada destas substâncias pelas guelras. Contaminantes como o selénio, zinco, cobre e ferro em quantidades moderadas podem ser encontrados num ambiente aquático limpo e saudável sendo que chegam a ser nutrientes essenciais para a vida marinha (Huss, 1994). O problema coloca-se quando ocorre um aumento significativo destas concentrações.

Os compostos orgânicos, que são de origem humana, são provenientes de derrames petrolíferos e descargas industriais, e regra geral, apresentam uma grande estabilidade química que leva à sua acumulação e persistência no ambiente. Existe também o aumento de químicos associados à atividade das aquiculturas devido ao despejo, por exemplo de resíduos medicamentosos, no meio aquático marinho.

O aumento das concentrações de contaminantes químicos varia de acordo com o pescado. Em espécies predatórias e portanto no topo da cadeia alimentar, é possível encontrar grandes concentrações de químicos como resultado da bioacumulação derivada do aumento de químicos acumulados no tecido corporal ao longo da vida do animal. É portanto compreensível que a presença dos contaminantes químicos nos produtos da pesca depende muito da origem geográfica, espécie e tamanho do peixe, hábitos alimentares, solubilidade dos químicos e a sua persistência no ambiente (Huss, 2003).

#### 2.3.4.1. Decisão Sanitária

A atitude que atualmente se toma relativamente aos contaminantes químicos é principalmente a aplicação de um sistema de monitorização para controlar o nível de resíduos e contaminantes em conformidade com a legislação comunitária (Regulamento (CE) n.º 854/2004).

O sistema de monitorização de contaminantes químicos em ambiente aquático é da responsabilidade do IPMA. Já a DGAV tem como responsabilidade a monitorização destes valores no decorrer do Plano Nacional de Pesquisa de Resíduos (PNPR). Adicionalmente

durante os controlos oficiais o Médico Veterinário Oficial deverá ter acesso às análises laboratoriais realizadas pelos estabelecimentos e avaliar se as atitudes e medidas tomadas pelos operadores visam a redução de contaminantes químicos nos produtos da pesca.

De um ponto de vista prático ainda que a presença de contaminantes químicos possua potencial risco para a saúde humana, o tema prende-se muito nas atitudes de proteção do ambiente de modo a reduzir o grau de poluição ambiental. Sendo que, este perigo é frequentemente considerado de menor grau de preocupação (Huss, 2003), e considera-se ainda um tema a desenvolver e a estudar.

#### 2.3.4.2. Biotoxinas

Pode-se considerar que as biotoxinas marinhas podem ser divididas em dois grupos. A maioria destas toxinas naturais é produzida naturalmente por algumas espécies de algas marinhas, como o fitoplâncton, que acabam por levar à acumulação destas toxinas mais notoriamente em moluscos bivalves mas também em produtos da pesca. O resto destas toxinas naturais corresponde a constituintes que naturalmente existem em determinadas espécies de peixes (FDA, 2011).

As biotoxinas marinhas são responsáveis por um número substancial de doenças que estão principalmente relacionadas com o consumo de moluscos bivalves (Vale, 2011). Estes compostos de origem não-peptídica acumulam-se nos moluscos bivalves quando estes retêm microalgas do grupo dos dinoflagelados (planctónicas) com potencial tóxico, durante o processo de filtração (DGS, 2011). Quando em grande quantidade nos moluscos, as biotoxinas atuam como neurotoxinas afetando o Homem se ingeridas. A sua ação no Homem leva ao desenvolvimento de uma série de síndromes sendo que as que mais frequentemente ligadas ao consumo de bivalves são: intoxicação paralisante (*Paralytic Shellfish Poisoning* (saxitoxina) - PSP), intoxicação amnésica (*Amnesic Shellfish Poisoning* (ácido domóico) - ASP), intoxicação diarreica (*Diarrhetic Shellfish Poisoning* (ácido ocadaico e dinofisistoxina-2 - DSP) e intoxicação por azaspirácido (*Azaspiracid Shellfish Poisoning* (azaspirácido) - AZP) (Vale 2011). Estas intoxicações aparecem associadas a sintomas que podem ser de foro neurológico (e.g. dormência, paralisia respiratória, tonturas, perda de memória a curto prazo, enxaquecas) e de foro digestivo (e.g. diarreia, vômitos, náusea, dor abdominal) (FDA, 2011).

Ainda que a presença de biotoxinas nos moluscos esteja diretamente relacionada com a concentração de microalgas na água onde os moluscos habitam, regra geral esta água não apresenta alterações de coloração que indiquem a contaminação do molusco, nem este

demonstra alteração de coloração, sabor ou odor quando se encontra contaminado (DGS, 2011). Tratamentos térmicos como a cozedura e a congelação não diminuem o grau de toxicidade o que levou alguns países, nomeadamente Portugal, a criar um programa de monitorização de biotoxinas para proteger o consumidor.

Outras substâncias tóxicas biológicas podem ser encontradas em peixes-ósseos associada ao consumo de peixes tropicais (intoxicação ciguatérica provocada pela ingestão de ciguatoxina) ou então em peixes cujos tecidos possuem naturalmente substâncias tóxicas, como é caso do peixe-balão (Vale 2004). As intoxicações ciguatéricas são caracterizadas pelo desenvolvimento de sintomas de foro neurológico, cardíaco e digestivo, como por exemplo: dormência bucal que se pode estender até às extremidades; vertigens; vômitos; náusea; diarreia; dor muscular e articular; fraqueza muscular; hipotensão, batimento cardíaco irregular (FDA, 2011).

#### 2.3.4.2.1. Decisão Sanitária

Em Portugal a autoridade competente responsável pela monitorização, classificação e controlo das zonas de produção de moluscos bivalves é o Instituto Português do Mar e da Atmosfera (IPMA) que analisa amostras recolhidas periodicamente num laboratório de referência para pesquisar os valores de biotoxinas ao mesmo tempo que analisa a concentração de microalgas tóxicas presentes na água do mar.

De acordo com o Regulamento (CE) n.º 853/2004 (Capítulo V, Secção VIII, Anexo III), é proibido colocar no mercado produtos da pesca derivados de peixes venenosos das famílias *Tetraodontidae* (fugu), *Molidae* (peixe-lua), *Diodontidae* (peixe-ouriço) e *Canthigasteridae* (peixe-sapo). Relativamente a pescado preparado, congelado e transformado da família de *Gempylidae* em especial *Ruvettus pretiosus* e *Lepidocybium flavobrunneum* só podem ser colocados no mercado se estiverem acondicionados em embalagens e devidamente rotulados fornecendo todas as informações ao consumidor (nome científico a acompanhar o nome comum) quanto ao modo de preparação ou forma de cozinhar e sobre os riscos associados à presença de substâncias nestes peixes. Ainda neste regulamento é referida a proibição de produtos da pesca que contenham biotoxinas como a ciguatoxina ou toxinas paralisantes dos músculos, permitindo apenas a comercialização, no caso de moluscos bivalves, se estes tiverem sido produzidos em conformidade com o disposto nesse mesmo regulamento.

#### 2.3.4.3. Histamina

A histamina é uma amina biogénica que pode ser endógena ou exógena. A histamina endógena é gerada em mamíferos através da descarboxilação do aminoácido histidina pela histidina descarboxilase, sendo que esta enzima apenas sintetiza a quantidade necessária e é degradada assim que a quantidade de histamina é suficiente (FAO/WHO, 2013). A histamina exógena pode ser encontrada em alguns alimentos, incluindo produtos da pesca, apresentando-se na forma de “histamina livre” (FAO/WHO, 2013). Esta “histamina livre” pode ser gerada por algumas bactérias responsáveis pelos processos associados à degradação e fermentação de pescado e é resistente ao calor.

Ainda que a histamina endógena possua um importante papel no funcionamento fisiológico do organismo, nomeadamente no funcionamento da resposta imunitária, secreção de ácido gástrico e neuromodulação, os produtos com altas concentrações de “histamina livre” podem causar reações de intolerância no consumidor, podendo mesmo levar a envenenamento por histamina (Taylor, 1986). A histamina desenvolve-se durante o processo de deterioração no *post mortem* do peixe, devido à descarboxilação bacteriana do aminoácido histidina, e parece estar frequentemente ligada à presença de enterobactérias endógenas, ou seja, naturalmente presentes no pescado, e exógenas, de origem após a captura (Ababouch, Gram, 2003).

O envenenamento por histamina ocorre devido à intoxicação química minutos depois de ocorrer ingestão de alimentos que contenham altos níveis de histamina (Taylor, 1983, 1986). Este envenenamento desenvolve-se num quadro de múltiplos sintomas (Tabela 6) sendo talvez a forma mais comum de toxicidade causada pela ingestão de pescado (Ababouch, Gram, 2003). O envenenamento provoca doença moderada sendo que o seu período de incubação é muito curto (de poucos minutos a poucas horas) tal como a duração da doença (poucas horas) (Huss, 1994). O envenenamento por histamina ocorre a nível mundial.

Este envenenamento é muitas vezes associado a outros nomes como SFP (Scrombotoxina fishpoisoning) (FDA, 2011). O SFP é causado por escombrotóxicas (histamina) resistentes ao calor que surgem em algumas espécies de peixes. Ainda que este envenenamento escombróide esteja ligado ao desenvolvimento de histamina nestes peixes, atualmente acredita-se que o envenenamento poderá também estar ligado a outras aminas biogénicas como a cadaverina e a putrescina (FDA, 2011). O SFP é frequentemente ligado ao consumo de peixes da família *Scombridae* (p.e. sarda, cavala) e *Scomberosocidae* pois são espécies cujo tecido muscular possui elevadas concentrações de histidina, servindo portanto de substrato para a descarboxilação bacteriana e conseqüente sintetização de histamina

(FAO/WHO 2013). Porém outros casos de SFP já foram também ligados ao consumo de arenque ou sardinha (Lehane, 2000).

**Tabela 6.** Sintomas mais comuns por envenenamento por histamina (Adaptado de Huss, 1994).

<b>Sintomas</b>	
<b>Cutâneo</b>	Rubor facial Urticária Edema
<b>Gastrointestinal</b>	Náusea Vómitos Diarreia
<b>Neurológico</b>	Enxaqueca Dormência Sensação de queimadura bucal

#### 2.3.4.3.1. Decisão Sanitária

O facto de serem substâncias resistentes ao calor representa um grave problema no controlo de perigos, especialmente na Indústria Conserveira pois é uma indústria que produz produtos de peixes que caracteristicamente possuem valores consideráveis de histidina no músculo. Isto traduz-se na incapacidade de garantir que após o processo de esterilização, um dos pontos críticos de controlo da linha de produção de conservas, o produto não possa apresentar valores fora dos limites legais.

Como prevenção para o aumento de valores de histamina, os operadores de estabelecimentos do setor alimentar devem garantir a aplicação medidas de refrigeração e estabilização da cadeia de frio e evitar a contaminação e desenvolvimento bacteriano dos produtos da pesca. É da responsabilidade de todos os estabelecimentos (p.e. lotas, conserveiras), de realizar para cada lote de produção uma série de análises de controlo na qual está incluída a análise a teores de histamina. Deste modo todos os estabelecimentos responsáveis pela circulação de produtos da pesca asseguram parte das suas responsabilidades impostas pelo Regulamento (CE) n.º 178/2002.



**Figura 12.** Recolha de amostras no âmbito do PIGA. Foto de Matilde Matos

O Médico Veterinário Oficial acaba por desempenhar um papel de fiscalizador pois na realização das visitas oficiais a estabelecimentos, como por exemplo no âmbito do PACE, este terá que verificar as análises laboratoriais realizadas e arquivadas para assegurar que os valores se encontram dentro dos limites legais. Dentro dos planos de controlo oficiais realizados pela DGAV existe um plano a seguir que especialmente avalia os teores de histamina de produtos da pesca a comercializar. Este plano é o PIGA, no qual o Médico Veterinário Oficial tem que se deslocar a estabelecimentos da Indústria Conserveira e recolher de cada empresa, 9 unidades de produto (conservas) com 200g cada uma que são depois seladas e enviadas para um laboratório oficial (Figura 12).

#### 2.4. Anisaquidose no Homem

O termo “anisaquidose” é utilizado para designar o conjunto de doenças que se desenvolvem devido à ingestão de pescado infetado por parasitas da família Anisakidae (Tabela 7) (Ramos, 2011). Dentro deste conjunto encontramos incluída a “anisaquiose” que corresponde à infeção parasitária do tubo digestivo por ingestão de larvas do género *Anisakis* (Kassai *et al.*, 1988; Ramos, 2011) devido ao consumo de pescado cru ou parcialmente cru. Dos parasitas no pescado, que constituem o grupo de espécies da família Anisakidae, *Anisakis simplex*, *A. pegreffii* e *Pseudoterranova decipiens* são as que têm maior potencial patogénico (Pozio, 2013). Destes três parasitas referidos as espécies de *Anisakis* spp. são as que se encontram principalmente ligadas ao desenvolvimento de anisaquiose.

**Tabela 7.** Parasitas da Família Anisakidae (Adaptado de Mattiucci e Nascetti, 2008)

<b>Anisakidae</b>		<b>Espécies</b>	
<b><i>Anisakis</i> spp.</b>	<i>Anisakis</i> larva Tipo I	<i>Anisakis simplex</i> complex:	
		- <i>Anisakis simplex</i> (s.s.)	
		- <i>Anisakis pegreffii</i>	
		- <i>Anisakis berlandi</i>	
		<i>Anisakis typica</i>	
		<i>Anisakis ziphidarum</i>	
		<i>Anisakis nascetti</i>	
		<i>Anisakis</i> larva Tipo II	<i>Anisakis physeteris</i>
			<i>Anisakis brevispiculata</i>
			<i>Anisakis paggiae</i>
<b><i>Pseudoterranova</i> spp.</b>		<i>Pseudoterranova decipiens</i>	
<b><i>Contracaecum</i> spp.</b>		<i>Contracaecum latum</i>	

O primeiro caso relatado de anisakiose no Homem data de 1876, e foi referido por Leuckart na Gronolândia, mas rapidamente a doença tornou-se mundial tendo em 1950 e 1960 se registado epidemias de anisaquiose na Holanda devido à ingestão de arenque parasitado (Van Thiel, 1960, 1962). De todos os milhares de casos registados a nível mundial, 90% eram do Japão sendo os restantes maioritariamente de Espanha, Holanda e Alemanha (Audicana *et al.*, 2002; Bouree *et al.*, 1995). De uma forma geral podemos dizer que casos associados a anisaquiose ocorrem mais frequentemente em países onde é comum o hábito alimentar de

consumir peixe cru, como o Japão, mas estas infeções tornaram-se cada vez mais comuns noutros países como Coreia, Tailândia e alguns países da Europa (Espanha, Holanda, Croácia, Dinamarca) devido ao aumento do consumo de peixe cru (Buchmann & Mehrdana, 2016) ou de peixe que tenha apenas passado por um processo de salga ou marinada (anchovas marinadas, ceviche). Ainda assim, acredita-se que a maior parte dos casos de anisaquidose e anisaquiose não são diagnosticados ou reportados (Hochberg & Hamer, 2010). Após a ingestão da larva viável pelo Homem, não só pode ocorrer o desenvolvimento de anisaquiose como também poderá ocorrer, devido ao consumo de larvas inviáveis, o desenvolvimento de uma reação alérgica em resposta aos alérgenos de larvas de anisaquídeos.

#### 2.4.1. Epidemiologia

Considera-se que uma grande variedade de espécies de peixe e cefalópodes podem ser considerados hospedeiros de *Anisakis* spp. (200 espécies de peixe e 25 de cefalópodes) e de *Pseudoterranova* spp. (75 espécies de peixe no Atlântico Norte) (Pozio, 2013). A prevalência destas espécies de parasitas depende da densidade populacional de mamíferos marinhos (Huss & Embarek, 2003). Dos estudos epidemiológicos realizados admite-se que ainda que a anisaquiose seja de distribuição mundial, esta doença será mais frequente em regiões costeiras onde existe maior atividade piscatória (Nunes *et al.*, 2003).

Num mercado em Espanha determinou-se que 39.4% do pescado à venda estava infetado com parasitas anisaquídeos. Estes elevados valores de parasitismos em peixes de valor comercial também foram registados na Escócia, Itália e França (Adroher *et al.*, 1996; Chord-Auger *et al.*, 1995).

No últimos 30 anos registou-se um aumento marcado de prevalência de anisaquiose a nível mundial, provavelmente devido à aplicação mais generalizada de métodos diagnósticos como a endoscopia, ou devido ao aumento da exposição do consumidor ao parasita consequente do aumento do consumo de pescado a nível mundial, e do aumento no mundo Ocidental da tendência para comer pescado cru ou parcialmente cru (McCarthy & Moore, 2000). Outro fator que aparenta estar a favorecer esta incidência pode ser atribuído ao crescimento de populações de hospedeiros definitivos devido ao reforço de medidas de proteção de mamíferos marinhos selvagens (Buchmann & Mehrdana, 2016). Em Portugal não existem dados em quantidade suficiente que permitam saber a prevalência de casos humanos mas nos últimos anos alguns estudos pontuais procuram determinar a prevalência deste parasita em várias espécies na costa portuguesa.

A prática de consumo de *sushi* e *sashimi*, pratos confeccionados com peixe cru, faz parte dos hábitos alimentares do consumidor no Japão, e ainda que estes pratos possam apresentar um elevado risco para a saúde do consumidor, o peixe que é frequentemente servido neste país em restaurantes de *sushi* tendem a apresentar-se com níveis de infeção de anisacídeos baixos ou até mesmo nulos, provavelmente devido à experiência e boas práticas de confeção características dos chefes de *sushi* que são peritos em identificar a presença de larvas (Nawa *et al.*, 2005). O maior risco apresentado relativamente à prática alimentar de peixe cru reside no mundo Ocidental onde a experiência e cuidados de confeção dos chefes de cozinha são de forma geral inferiores aos de chefes japoneses. Por outro lado, na procura de comer *sushi* e *sashimi* de forma mais económica, o consumidor tenta confeccionar os pratos em casa desconhecendo as medidas a tomar com peixe fresco aquando do consumo deste cru.

#### 2.4.2. Morfologia

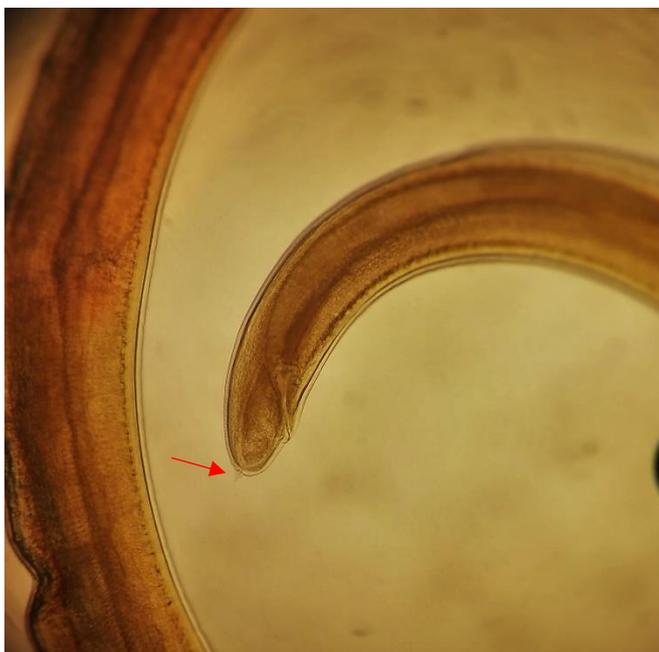
Macroscopicamente é possível diagnosticar a presença de larvas de anisacídeos (Tabela 8) mas a sua diferenciação a nível de espécie é difícil. No pescado a maioria das larvas aparece tipicamente encapsulada com uma cor amarelo-acastanhada e enrolada sobre si mesma fazendo uma espiral apertada (Figura 17 e 18), medindo entre 4 a 5 mm de diâmetro (EFSA, 2010).

**Tabela 8.** Características de *Anisakis simplex* e *Pseudoterranova dicipiens* (Adaptado de Huss & Embarek, 2003)

<b>Espécie</b>	<b>Dimensões</b>	<b>Cor</b>	<b>Apresentação</b>
<i>Anisakis simplex</i>	18-36 mm (comprimento) 0.3-0.7mm (largura)	Esbranquiçada	Enrolada em espiral
<i>Pseudoterranova dicipiens</i>	25-60mm (comprimento) 0.3-1.2mm (largura)	Amarelo- acastanhado, avermelhado	Em “S” ou estendido

As larvas do Género *Anisakis* são esbranquiçadas a transparentes com reduzidas dimensões e apresentam uma cutícula finamente estriada transversalmente; a cabeça é de

extremidade arredondada com um dente cefálico pequeno e ventral; existe um anel nervoso perto deste dente cefálico; têm um esófago fino e um ventrículo largo e longo; a extremidade posterior é oblíqua quando observada lateralmente e a porção ventral desta extremidade é mais longa que a dorsal; a cauda tem uma forma cônica e é relativamente curta com uma extremidade arredondada com um pequeno mucron visível (Figura 13) (Moravec, 1998).



**Figura 13.** Imagem da extremidade provida de mucron (seta) de um exemplar de larva de *Anisakis* do Tipo I.  
Foto de Matilde Matos

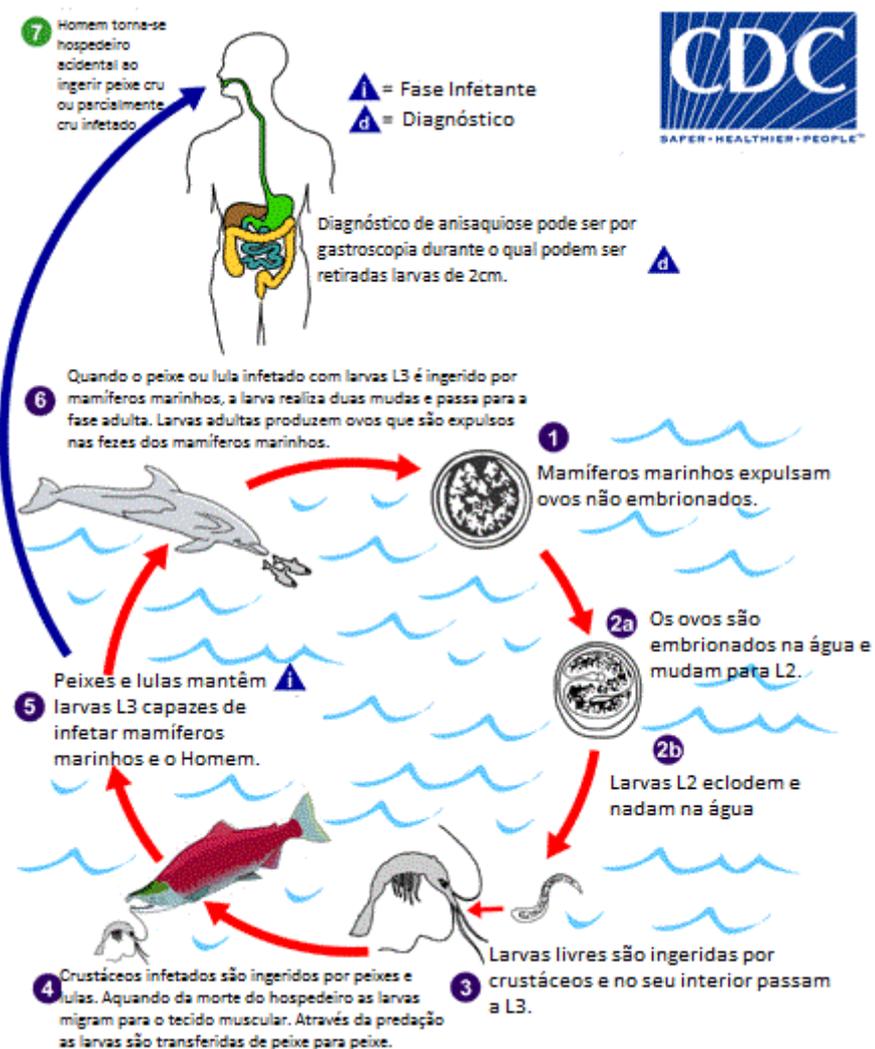
Como é possível observar na Tabela 7, dentro do Género *Anisakis* diferencia-se morfologicamente dois tipos de larvas de *Anisakis* spp. durante a fase larvar L3. Esta diferenciação é feita em larvas de *Anisakis* Tipo I (*A. pegreffii*, *A. simplex* s.s., *A. berlandi*, *A. ziphidarum*, *Anisakis nascettii* e *A. typica*) e larvas de *Anisakis* Tipo II (*Anisakis physeteris*, *A. brevispiculata* e *A. paggiae*). No caso de *Anisakis* Tipo I (Figura 8), estas larvas possuem um ventrículo mais comprido e mucron presente na extremidade da cauda, enquanto larvas de *Anisakis* Tipo II possuem um ventrículo mais curto e não apresentam mucron (Berland 1961; Koyama *et al.*, 1969).

Nos parasitas adultos a identificação morfológica a nível da espécie é possível, mas em estados larvares é bem mais complicada. Em espécies de interesse para o estudo de anisaquidose, como é caso do *Anisakis simplex* (s.s.) e do *Anisakis pegreffii*, esta diferenciação morfológica das larvas é mais difícil, e só recentemente num estudo efetuado por Quiazon *et al.* (2008) é que se identificaram medidas de características morfológicas que permitem esta diferenciação tanto em larvas como em formas adultas.

### 2.4.3. Ciclo de Vida

Os anisquídeos têm como hospedeiros definitivos (HD) espécies de mamíferos marinhos e aves piscívoras, utilizando como hospedeiros intermediários (HI) os crustáceos bentônicos e planctônicos e como hospedeiros paratênicos (HP) os peixes e moluscos cefalópodes (lula) (Gómez Sáenz *et al.*, 1999). De facto uma série de espécies de peixes são parasitadas, nomeadamente espécies de peixe de grande popularidade e de valor comercial representando desta forma um modo de transmissão do parasita ao Homem que pode ser considerado um hospedeiro acidental (HA) (Figura 14).

**Figura 14.** Ciclo de vida de anisquídeos responsáveis pela Anisquiiose no Homem. (Imagem cedida por DPDx (2013))



Ao atingirem a maturidade sexual e após realizarem a cópula no HD, as fêmeas adultas efetuam a ovopostura no intestino do hospedeiro e libertam os seus ovos para o exterior através das fezes do HD. No exterior os ovos são embrionados e sofrem as duas primeiras

mudas para depois libertarem larvas na 2ª fase larvar (L2) capazes de se movimentar em meio aquático (Koie *et al.*, 1995). Estas larvas são ingeridas por pequenos crustáceos e no interior destes passam a L3. Os crustáceos infetados servem de alimento para os peixes que ao ingeri-los ficam também infetados com L3. No interior dos peixes as larvas perfuram as paredes do aparelho digestivo, alcançando e fixando-se nas vísceras, músculo ou permanecem livres na cavidade abdominal (Ramos, 2011). No interior do HP as larvas enquistam, devido à ação do organismo do hospedeiro, mantendo a sua capacidade infetante (Andersan, 1992). Quando o peixe infetado é ingerido por outro HP, a cápsula é digerida e o processo repete-se. Este ciclo é importante na medida que nos indica uma situação de bioacumulação de parasitas ao longo da cadeia alimentar podendo resultar numa intensa carga parasitária em peixes maiores, logo, mais velhos, que podem chegar a possuir centenas ou até mesmo milhares de larvas encapsuladas (Smith & Wootten, 1978). O HD infeta-se após ingerir hospedeiros paraténicos infetados.

#### 2.4.4. Anisaquidose e Anisaquioses

Existem casos nos quais infeções de anisaquídeos L3 evoluem sem demonstrarem quaisquer sinais clínicos no paciente que acaba por curar-se espontaneamente (Buchmann & Mehrdana, 2016). Considera-se que a anisaquidose se expressa no Homem em 4 síndromes principais (Tabela 9): gástrica, intestinal, ectópica e alérgica.

**Tabela 9.** Sinais clínicos mais comuns associados às 4 síndromes de anisaquiose. (Hochberg & Hamer, 2010)

<b>Sinais Clínicos</b>	
<b>Gástrica</b>	Dor gástrica severa Náusea Vómitos Febre ligeira
<b>Intestinal</b>	Dor abdominal intermitente a constante Sinais de ascite e/ou peritonite
<b>Ectópica</b>	Dor abdominal Sinais de perfuração gástrica/intestinal
<b>Alérgica</b>	Urticária Angioedema isolado Choque anafilático

Os sinais clínicos de anisakiase gástrica começam a desenvolver-se 1-12 horas após ingestão de peixe cru infetado com larvas viáveis, mas a evolução destes sinais clínicos pode chegar até 12 ou mesmo 48 horas. Para além destes sinais clínicos os pacientes com anisakiase gástrica podem desenvolver prurido e em alguns casos registou-se o envolvimento esofágico (Hochberg & Hamer, 2010). No caso de anisakiase gástrica aguda os sintomas podem resolver-se em poucos dias mas existem pacientes que apresentam ligeira dor abdominal, náusea e vómitos, semanas a meses após a infeção. Caso não seja devidamente tratada, a anisakiase gástrica pode tornar-se crónica com sintomatologia semelhante à de úlceras, podendo durar meses (Ito *et al.*, 2007).

Na anisakiase intestinal, esta desenvolve-se 5 a 7 dias após a ingestão da larva. A presença da larva no intestino gera uma forte resposta inflamatória principalmente a nível da seção terminal do íleo mas também, mais raramente, pode surgir a nível do colón e jejuno (Shirahama *et al.*, 1992).

A anisakiase ectópica é menos comum. É provocada quando a larva realiza perfurações gástricas e/ou intestinais permitindo a sua migração para a cavidade peritoneal e, raramente, para a cavidade pleural, mesentério, fígado, pâncreas, ovários e tecido subcutâneo. Devido às perfurações e desenvolvimento de reação inflamatória, podem surgir granulomas eosinófilicos (Ramos, 2011).

Esta elevada capacidade de invasão dos tecidos pelas larvas de *A. simplex* resulta da atividade destrutiva do dente perfurante presente na zona anterior do parasita e à degradação celular enzimática provocada pelas protéases secretadas por glândulas da larva (Ubeira *et al.* 2000). Através desta acção a larva consegue penetrar a mucosa com consequente reação inflamatória com necrose, que leva à formação de granulomas por corpo estranho e/ou granulomas eosinófilico grave (Vuong *et al.*, 2000).

Muitos dos doentes apresentam sintomatologia gastrointestinal associada a reação alérgica de hipersensibilidade que pode surgir 2-6 horas após ingestão da larva (Pozio, 2013). Esta reação alérgica é mediada por IgE sendo que esta associação alérgica a gastrointestinal é designada de anisakiase gastroalérgica (Daschner *et al.*, 2000). O único parasita associado a produtos da pesca e que é responsável pelo desenvolvimento de reação tanto gastroalérgica como apenas alérgica é o *Anisakis simplex* (Ramos, 2011). Estas situações de desenvolvimento de sintomas alérgicos podem estar associadas à infeção com larva viva ou à presença de alérgenos nos produtos da pesca mesmo com o parasita morto. A principal via de sensibilização no Homem é a digestiva mas também há casos registados de sensibilização a nível respiratório e de contato com pele e mucosas podendo gerar outras formas clínicas de

alergia (Ramos, 2011). A maioria dos casos associados a reações alérgicas de *A. simplex* surgem essencialmente em Espanha, e estão frequentemente associados ao consumo de produtos da pesca ou por exposição ocupacional (Pozio, 2013). Atualmente foram detetadas 12 proteínas de *A. simplex* identificadas como alergénios de origem somática ou de excreção/secreção (E/S) deste parasita (de Ani s1 a Ani s 12) (Ivanovic *et al.*, 2015). A reação pode desenvolver-se de diferentes formas, sendo estas: devido à exposição de antigénios somáticos derivados de larvas mortas presentes na comida; durante a invasão da mucosa gastrointestinal pela larva que leva à libertação de produtos de E/S parasitária (Moneo *et al.*, 2000; Ramos, 2011); devido à libertação de antigénios de E/S quando ocorre a expulsão ou excisão cirúrgica da larva intacta; ou então a associação dos dois casos quando a larva penetra os tecidos e é morta pelo hospedeiro e subsequentemente sofre degeneração (Ivanovic *et al.*, 2015). Vários estudos focam-se na investigação de alergénios de *Anisakis simplex* pelo facto de estes serem estáveis ao calor, o que significa que mesmo após os tratamentos térmicos e de processamento aplicados a produtos da pesca, estas substâncias podem permanecer no produto e portanto, podem ser ingeridos pelo consumidor.

#### 2.4.4.1. Diagnóstico

Um dos maiores problemas para o diagnóstico da síndrome alérgica aguda é o facto de não haver uma correlação temporal certa entre o momento de ingestão do peixe infetado e o desenvolvimento de sinais clínicos, podendo o paciente demorar quase 24 horas a apresentar sintomatologia, o que leva a que muitas vezes a que ocorra o sub-diagnóstico (Ramos, 2011).

O diagnóstico clínico é frequentemente realizado através da endoscopia e de exames radiológicos, enquanto os testes imunológicos (fixação do complemento (FC), teste de imunofluorescência (IFAT), imunoeletroforese (IEF), ensaio de imunoabsorção enzimática (ELISA) e RAST (“radioallergosorbent”)) são na maioria das vezes utilizados como métodos de diagnóstico indiretos (Ivanovic *et al.* 2015). A interpretação destes testes serológicos revela alguns problemas na medida que muitas vezes ocorrem reações cruzadas com os antigénios de outros parasitas nematodes (ex. espécies *Ascaris* e *Toxocara*) ou então porque o soro de indivíduos não infetados pode conter anticorpos específicos que levam ao aparecimento de Falsos Positivos. De todos estes testes o RAST é reconhecido como o mais sensível e mais específico (EFSA, 2010).

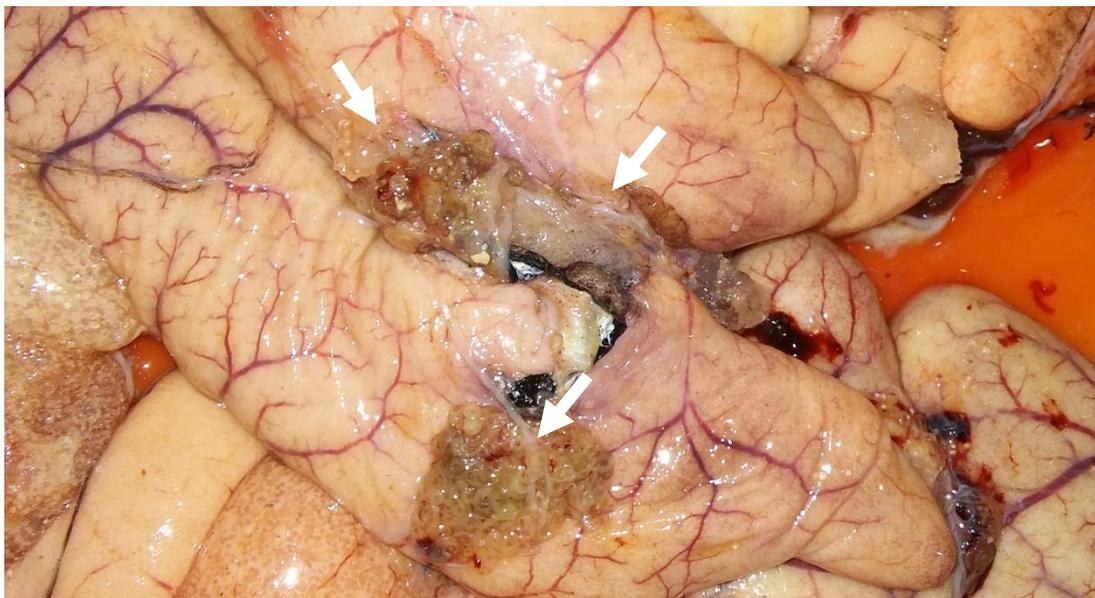
#### 2.4.4.2. Tratamento no Homem

Em casos de anisiquiose gástrica aguda, o tratamento passa pela remoção direta das larvas através de métodos de endoscopia, que permite melhorar quase de imediato os sintomas sofridos. Em outros casos e de acordo com as complicações associadas, pode ter que ocorrer cirurgia (laparotomia exploratória) para conseguir retirar as larvas L3 e/ou realizar extração de áreas afetadas (ex. extração cirúrgica de granuloma) (Pozio, 2013). Também é possível a utilização de anti-helmintos como forma de eliminar os agentes etiológicos através do uso de Albendazole e Ivermectina (Buchmann & Mehrdana, 2016; Pozio, 2013).

#### 2.4.5. Prevenção

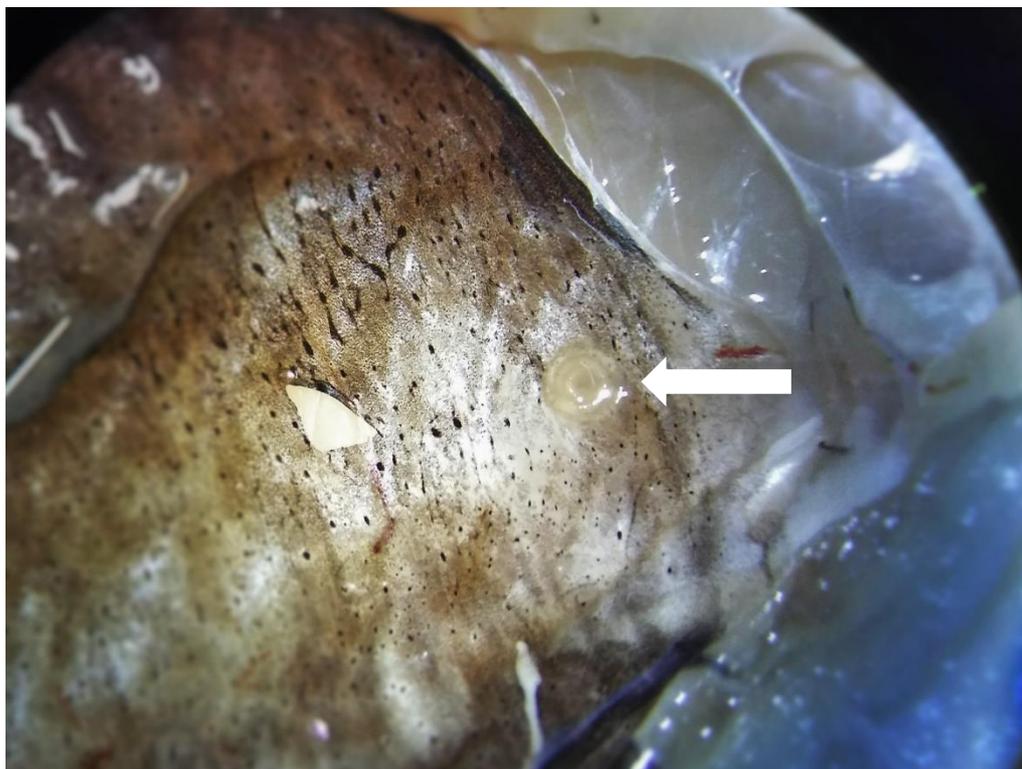
A prevenção e controlo de anisiquiose baseia-se na aplicação de medidas após a captura do pescado, nomeadamente durante a sua manipulação, armazenamento e preparação (Abollo *et al.*, 2001). A evisceração do peixe imediatamente após a sua captura permite prevenir a migração *post mortem* de um grande número de larvas desde as vísceras/cavidade abdominal para o músculo, diminuindo assim em grande grau o número de larvas presentes nas porções comestíveis do pescado (EFSA, 2010). Esta medida de evisceração pode ser encontrada como um requisito aplicável a estabelecimentos, incluindo navios, que manuseiam produtos frescos da pesca, descrita no Regulamento (CE) n.º 853/2004. Ainda assim a medida não impede que uma porção das larvas realize este trajeto. Um aspeto desejável associado à evisceração a bordo tem a ver com o facto de haver o reforço da prática pesqueira de congelar o material eviscerado para depois ou utilizar como isco ou eliminar diretamente para o mar, impedindo a perpetuação de ciclos de parasitismo nas cadeias alimentares costeiras pois a congelação leva à morte do parasita (Ramos, 2011; Valero *et al.*, 2006). Outra medida que permite reduzir ou atrasar o processo de migração de larvas é a armazenagem do pescado em estiva de gelo a uma temperatura próxima da do gelo fundente. Esta medida ajuda já que as larvas parecem realizar a migração para o músculo como resposta ao aumento da temperatura interna no *post mortem*. Foi de facto provado por Cipriani *et al.* (2016) que após captura, a temperatura de conservação de pescado desempenha um importante papel na redução da migração de larvas para o músculo.

**Figura 15.** Aglomerados de larvas L3 (setas) de anisacídeos nas gónadas de pescada (*Merluccius merluccius*). Foto de Matilde Matos



A deteção das larvas pode ocorrer através de inspeção visual (Figura 15 e 16), “slicing”, “candling”, compressão, “pressing”, digestão ou por Polymerase Chain Reaction (PCR) (EFSA, 2010). De todos estes métodos, o mais frequentemente utilizado é o de inspeção visual pois ainda que tenha baixa sensibilidade, continua a ser o processo mais rápido e mais barato. Através da inspeção visual é apenas possível avaliar as larvas alojadas mais perto da superfície do músculo, podendo ser depois removidas com a ajuda de uma lâmina. Ainda assim, as larvas que se encontram mais profundas podem passar despercebidas sendo por isso que o método de inspeção visual é muitas vezes associado ao “candling” no qual se incide uma forte luz branca através de um filete de pescado o que, na presença de larvas, leva a que elas possam ser identificadas como pequenas sombras (EFSA, 2010). A associação destes métodos funciona bem em casos de *Pseudoterranova decipens* devido ao seu aspeto mais robusto e mais escuro, mas não deteta tão facilmente larvas de *Anisakis simplex* ou *Anisakis pegreffii*. Comparativamente ao uso de inspeção visual e “candling”, a associação de “candling” com “slicing” destrutivo demonstrou melhores resultados (EFSA, 2010).

**Figura 16.** Larva L3 (seta) de *Anisakis* spp. detetada na cavidade visceral de pescada (*Merluccius merluccius*) durante a inspeção visual em laboratório. Foto de Matilde Matos



A utilização do método de “pressing” (fluorescência de larvas *Anisakis* spp. em vísceras e músculo congelados para posterior inspeção visual com luz UV incidente) e o método de digestão são utilizados para realizar a deteção sistemática de larvas nematodes no músculo do peixe em alguns estudos. No método de digestão, utiliza-se solução pepsina e ácido clorídrico em larvas de anisquídeos presentes no pescado permitindo obter praticamente todas as larvas presentes no pescado mas infelizmente é um método lento.

Outro método utilizado é o PCR que permite a identificação genética de espécies de *Anisakis* spp.. Este método revela-se importante, não como método de uso recorrente a nível industrial (EFSA, 2010) por ser muito lento, mas sim a nível do potencial que tem de fornecer informações epidemiológicas relativamente às espécies de *Anisakis* spp.

Atualmente como método mais eficaz de prevenção de desenvolvimento de anisquidose no Homem temos a utilização de tratamentos térmicos. Estes tratamentos encontram-se descritos na legislação e são de uso obrigatório especialmente em caso de pescado destinado a consumo em estado cru. No Regulamento (CE) n.º 853/2004 é indicado que os produtos deverão passar por um tratamento de congelação de modo a permitir a redução da temperatura interna em todas as partes do produto no máximo até -20°C durante, no mínimo, 24 horas, ou no máximo até -35°C durante no mínimo, 15 horas. Recentemente a legislação

foi atualizada de forma reforçar medidas relativamente à inviabilização das larvas presentes em produtos da pesca, de modo a que no Regulamento (EU) n.º 1276/2011 se prevê, para além do tratamento por congelação, o tratamento térmico com aquecimento do produto até uma temperatura interna de 60º C ou mais, durante no mínimo 60 segundos. Estes tratamentos são suficientes para eliminar as larvas L3 de *Anisakis* spp. mas não para eliminar o seu potencial alergénico.

Ainda assim um método prevenção que deve ser considerado e reforçado, nomeadamente na Europa, é informar os consumidores e operadores de empresas dos setor alimentar para a existência das larvas de anisacídeos no peixe e recomendar evitar o consumo de peixe cru ou parcialmente cru, marinado ou em salga, sem que este tenha sido submetido a um tratamento térmico adequado e capaz de inviabilizar as larvas presentes.

#### 2.4.5.1. Anisacuídose e a Aquicultura

Até muito recentemente considerava-se que não existia risco associado ao consumo de pescado produzido em aquicultura, nomeadamente no caso do salmão do Atlântico de aquicultura, cuja probabilidade de infeção seria negligenciável dado que se alimentam praticamente só de alimento seco e pellets (EFSA, 2010). No estudo realizado por Mo *et al.* (2014) concluiu-se que existe a possibilidade de infeção dos salmões de aquicultura aquando da entrada de crustáceos e outros animais marinhos nas jaulas abertas, permitindo que os salmões se alimentem destes animais para além de ser alimentarem dos pellets. Esta infeção foi detetada em peixes de menores dimensões e menor qualidade, mas ainda assim deve levantar questões quanto a futuras análises de riscos nas aquiculturas.

### 3. Material e Métodos

Para este estudo utilizámos 30 pescadas (*M. merluccius*) capturadas no Norte Atlântico de Portugal, e adquiridas, por escolha aleatória, na Lota de Matosinhos em setembro de 2015. Os peixes estiveram em estiva a temperatura próxima do gelo fundente, desde a sua captura até à sua compra em lota. Ao chegar ao laboratório foram imediatamente congelados e conservados a uma temperatura não superior a  $-20^{\circ}\text{C}$ .

Após descongelação e antes da análise parasitológica, os peixes, foram pesados e medidos (Figura 17) até o mais aproximado 0.1 cm e pesados antes da sua dissecação (Figura 18). Os peixes apresentavam em média  $28.28 \pm 2$  cm de comprimento (24-33 cm). Todos os peixes foram pesados apresentando um peso médio de  $225.25 \pm 44$  g (122.1-288.2 g).



**Figura 17.** Medição do comprimento.  
Foto de Matilde Matos.



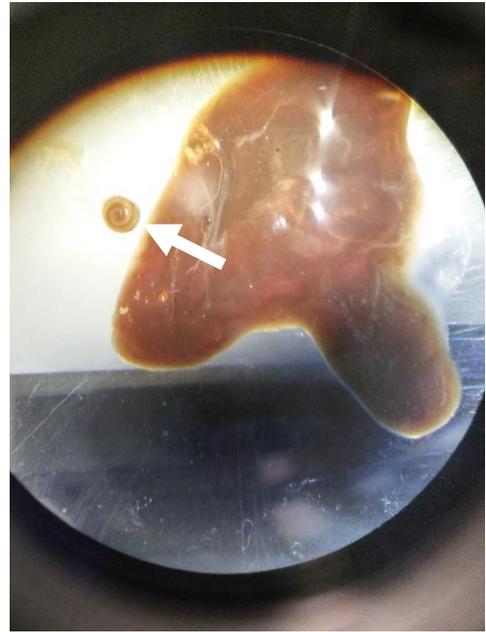
**Figura 18.** Pesagem de cada peixe numa balança calibrada. Foto de Matilde Matos

Após evisceração, as larvas eram recolhidas da cavidade visceral e órgãos (Figura 19 e 20). Adicionalmente, amostras de músculo foram recolhidas dos músculos epiaxial e hipoaxial, próximos da cabeça e barbatana caudal para depois ser realizada uma inspeção visual e aplicado o método de compressão, com observação ao microscópio.

Para a identificação visual, as larvas isoladas foram lavadas numa imersão com solução salina (0.9% NaCl) e consecutivamente preservadas em Etanol a 70%. Para a observação com microscópio ótico, as larvas foram clareadas com glicerina e individualmente separadas e montadas em lâminas.



**Figura 19.** Larva L3 de anisquídeo fixada ao fígado de *M. merluccius*. Foto de Matilde Matos.



**Figura 20.** Larva L3 de anisquídeo retirada do baço de *M. merluccius*. Foto de Matilde Matos

As larvas foram morfologicamente separadas em Tipo I e Tipo II (Berland B., 1961; Koyama *et al.*, 1969).. No caso de *Anisakis* Tipo I (Figura 13), estas larvas possuem um ventrículo mais comprido e mucron presente na extremidade da cauda, enquanto larvas de *Anisakis* Tipo II possuem um ventrículo mais curto e não apresentam mucron (Berland 1961; Koyama *et al.*, 1969).

De acordo com estudos sobre a identificação genética de *Anisakis* sp. na pescada (*M. merluccius*) no mar em Espanha (Valero *et al.*, 2006; Cipriani *et al.*, 2014) e em pleuronectiformes da costa de Portugal (Marques *et al.*, 2006), das 6 espécies que se encontram associadas ao grupo *Anisakis* Tipo I, a *A. simplex* (s.s.) e a *A. pegreffii* são as mais frequentemente identificadas na costa Atlântica de Portugal. Assumindo portanto que relativamente às espécies identificadas no Tipo I, as de maior prevalência registada são *Anisakis simplex* s.s. e *Anisakis pegreffii* (Valero *et al.*, 2006; Cipriani *et al.*, 2014), foi realizada a sua diferenciação morfológica para determinar a proporção de cada espécie. Para uma identificação morfológica mais adequada, seguimos o trabalho realizado por Quiazon *et al.* (2008), medindo e examinando o comprimento do esófago, comprimento do ventrículo (Figura 21) e a largura do ventrículo para tentar identificar as larvas L3. Todas as medidas foram registadas em milímetros.



**Figura 21.** Medição do ventrículo de L3 de anisquídeo para identificação morfológica. Foto de Matilde Matos.

Para a compressão (European Union Reference Laboratory for Parasites, 2014) utilizámos uma lâmina adequada para a extração cuidadosa de amostras de peixe do músculo, enquanto se certificava de que o tecido muscular recolhido permanecia o mais limpo possível. Os filetes foram observados depois de os colocar entre duas lâminas grossas de plexiglass e posteriormente aplicar uma força de pressão, esmagando o músculo. Utilizámos o microscópio com luz média para procurar larvas em cada amostra.

### 3.1. Tratamento estatístico

Os parâmetros parasitológicos inicialmente calculados foram:

-Prevalência, que corresponde à razão, entre o número de peixes infetados e o número de peixes observados, multiplicada por 100 e expressa em percentagem;

-Intensidade, que é o número de parasitas de uma espécie ou de um taxa encontradas num peixe infetado, é sempre  $>0$ , onde o 0 não está incluído;

- Abundância, que é o número de parasitas de uma espécie ou de um taxa encontrada num peixe observado, infetado ou não, é sempre  $\geq 0$ , onde o 0 está incluído.

De acordo com Valero *et al.* (2006), aplicou-se a um conjunto de procedimentos estatísticos com o objetivo de analisar possíveis relações entre a prevalência e o comprimento, o gênero e o peso do hospedeiro:

- Efetuou-se a divisão pela mediana para criar 2 subgrupos relativamente ao peso e ao comprimento;

- Foi calculado o teste Chi-square para verificar se o número de fêmeas era significativamente diferente do número de machos;

- Foi calculado o teste t de Student para verificar a normalidade relativamente ao peso e ao comprimento;

- Calculou-se o teste de Fisher por aproximação à distribuição binomial para analisar a relação entre prevalência e o gênero (macho versus fêmea), o comprimento e o peso (estando estes 2 últimos organizados em 2 classes de tamanho, pequenos versus grandes).

O nível de significância foi estabelecido a  $P < 0,05$ . Toda a análise estatística foi realizada em SPSS em software Windows, na versão 2.

#### 4. Resultados e discussão

Relativamente ao estudo realizado ao nível de infeção de pescada (*Merluccius merluccius*) por *Anisakis* spp., acreditamos que os nossos valores foram influenciados por uma série de factores como o comprimento, idade, sexo e localização geográfica do local de captura das pescadas (*M. merluccius*) e características próprias de larvas de *Anisakis* spp. Todas as larvas de *Anisakis* spp. observadas encontravam-se encapsuladas e alojadas nas superfícies dos órgãos viscerais, preservando uma posição enrolada. Neste estudo, recolheu-se o total de 46 larvas, extraídas das 30 pescadas capturadas, permitindo estimar uma prevalência de 76.67%, intensidade média de  $2.0 \pm 1.2$  (1-5). Do total de larvas identificadas como *Anisakis* spp., foi possível identificar 3 grupos de espécies: 38 larvas de *Anisakis* do Tipo I, 3 larvas de *Anisakis* do tipo II e 5 larvas parcialmente destruídas de *Anisakis* sp.. As prevalências de larvas Tipo I e Tipo II foram de 70% e 10% e as suas intensidades médias foram de  $1.8 \pm 1.0$  (1-4) e  $1.0 \pm 0$  (1), respetivamente.

##### 5.1. Idade do hospedeiro

Os valores do nível de infeção por *Anisakis* spp. determinados no nosso estudo foram mais baixos que os valores obtidos num estudo realizado sobre a presença de *Anisakis* sp. em pescada (*M. merluccius*) realizado por Valero *et al.*, (2006) (prevalência = 87.97%; intensidade média= 2.04; abundância média= 1.57). Acreditamos que esta diferença de valores poderá estar relacionada com a diferença no intervalo de dimensões do pescado utilizadas nos dois estudos, já que o intervalo de comprimento da nossa amostra (24-33cm) é menor que o que foi utilizado em Valero *et al.* (2006) (40-52 cm). Foi também possível constatar uma diferença de valores de prevalência e intensidade obtidos em outros dois estudos realizados em pescadas (*Merluccius merluccius*) capturadas na Costa Atlântica Oeste de Portugal. O estudo realizado por Silva e Eiras (2003) revelou uma prevalência de 100% e uma intensidade de  $51.3 \pm 5.7$  que se revelam valores muito superiores aos obtidos no nosso estudo (prevalência= 76.67%; intensidade média=  $2.0 \pm 1.2$ ). Acreditamos que as dimensões dos exemplares utilizados na amostra do estudo de Silva e Eiras (2003) (comprimento médio=  $36.5 \pm 0.4$  (36-37)) terão influenciado esta diferença de resultados obtidos. A importância nas dimensões dos peixes utilizados para a nossa amostra reside no facto de que o comprimento do corpo da pescada ser um indicador da sua idade, pois o crescimento corporal é proporcional à idade do peixe. Acreditamos que as pescadas capturadas e utilizadas no nosso estudo correspondem a um cardume jovem ou juvenil já que é característico de juvenis alimentarem-se maioritariamente de pequenos crustáceos (ex. krill, anfípodas). Tal facto foi corroborado

no nosso estudo uma vez que encontramos restos de pequenos crustáceos no trato digestivo de alguns peixes aquando da dissecação. Espécies que se alimentam maioritariamente de pequenos crustáceos tendem a apresentar níveis mais baixos de parasitismo por larvas de *Anisakis* spp. no músculo, comparativamente com peixes piscívoros que apresentam infeção de larvas L3 de forma mais distribuída por todo o corpo (Smith, 1984; Cruz *et al.*, 2007). No caso da pescada, ainda que durante na fase juvenil os peixes tenham uma dieta principalmente à base de crustáceos, na fase adulta esta espécie torna-se particularmente voraz e predatória com uma dieta predominantemente piscívora. Podemos portanto considerar esta explicação como uma das possíveis justificações para o baixo número de larvas encontradas no nosso estudo. A influência dos hábitos alimentares dos peixes e a preferência das larvas na escolha de micro-habitat (Smith & Wootten, 1975) poderá também ser utilizada para esclarecer o motivo pelo qual não foram encontradas larvas no músculo de nenhum dos hospedeiros estudados.

#### 5.2. Comprimento e peso do hospedeiro

A nível dos parâmetros de infeção e de acordo com o comprimento do hospedeiro, determinamos que peixes entre 24-28.9 cm com *Anisakis* apresentavam uma prevalência inferior, sendo esta de 73% e intensidade média de 2.18. Peixes com dimensões entre 28.5-33 cm apresentavam uma prevalência ligeiramente maior, com níveis de prevalência de 80% e intensidade média de 1.83. No entanto esta diferença não se revelou estatisticamente significativa ( $z = 0,432$ ,  $p > 0,05$ ). Quanto ao peso do hospedeiro, foi encontrada uma relação semelhante à descrita para a variável comprimento: os peixes entre 122,1-223,6 g apresentavam uma prevalência inferior, sendo esta de 66,7% e intensidade média de 2.1, enquanto que peixes com 234,4-288,2g apresentavam uma prevalência ligeiramente maior, com níveis de prevalência de 86,7% e intensidade média de 1.9 não tendo sido esta diferença estatisticamente significativa ( $z = 1,295$ ,  $p > 0,05$ ). Estes valores apesar de não serem estatisticamente significativos mostram uma tendência registada em estudos anteriores de que existe uma correlação positiva entre o comprimento do hospedeiro e o número de larvas encontradas em todas as espécies de peixe infetadas (Mladineo & Poljak, 2013; Borges, 2008). Esta relação foi atribuída ao efeito bioacumulativo de infeções parasitárias repetidas que resultam da constante reinfeção através da dieta, que é tanto maior quanto mais velho for o animal. Muitos estudos descrevem esta bioacumulação de *Anisakis* sp. como a principal causa da acumulação de parasitas no hospedeiro paraténico (Mattiucci *et al.* 2004, Patrić *et al.* 2011, Rello *et al.* 2009).

### 5.3. Género do hospedeiro

Relativamente ao género dos hospedeiros, a diferença da prevalência não se revelou estatisticamente significativa ( $z = 1,403$ ,  $p > 0,05$ ) apesar dos hospedeiros do género feminino terem registado uma prevalência de 90.9% e intensidade média de 2.2, enquanto que os hospedeiros masculinos apresentaram uma prevalência de 68.4% e intensidade média de 1.9. Estas diferenças estão de acordo com os resultados apresentados pela maioria dos estudos. Considera-se atualmente que o género do hospedeiro possui uma grande influência no grau de parasitismo. No caso da pescada (*Merluccius merluccius*) o maior grau de parasitismo detetado em hospedeiros fêmeas é associado ao facto de que as fêmeas de espécies de peixes demersais têm caracteristicamente um crescimento mais rápido (Mladineo & Poljak, 2014).

### 5.4. Características de *Anisakis* spp.

Das 30 pescadas (*M. merluccius*) dissecadas, recolheram-se larvas *Anisakis* Tipo I e *Anisakis* Tipo II que obtiveram prevalências de 70% e 10% respetivamente. Estes valores são diferentes dos valores obtidos noutros estudos que também estudaram a presença destas larvas na pescada (*M. merluccius*). No estudo realizado por Valero *et al.* (2006), os resultados obtidos foram de 85.71% para *Anisakis* Tipo I e 30.83% para *Anisakis* Tipo II. Reconhecendo que utilizámos uma amostra de pescadas (*M. merluccius*) capturada no Atlântico Norte de Portugal e que no estudo de Valero *et al.* (2006) a amostra de hospedeiros teve origem do Atlântico a Noroeste de África e do Mediterrâneo a Sul de Espanha, acreditamos que a ideia atual de que a localização geográfica do habitat do pescado pode influenciar os parâmetros de parasitismo dos diferentes hospedeiros (Adroher *et al.*, 1996; Valero *et al.* 2000; Rello 2003), pode ser uma das principais explicações para a diferença de resultados.

#### 5.4.1. Quanto à espécie de *Anisakis* e a sua distribuição no hospedeiro

Como não foi realizada nenhuma identificação a nível molecular, não foi possível concluir com toda a certeza a identificação a nível de espécie para *Anisakis simplex* (s.s.) e *Anisakis pegreffii*, já que a diferenciação morfológica a nível de espécie é muito difícil de obter. Porém aplicámos a diferenciação através da procura de características morfológicas desenvolvidas por Quiazon *et al.* (2008). De acordo com este estudo é possível realizar a distinção destas duas espécies através da comparação do comprimento do ventrículo e proporção de esófago/ventrículo. Utilizando estas diferenças morfológicas decidimos estudar cada larva recolhida e descobrimos que das 38 larvas identificadas como *Anisakis* Tipo I, 5 delas são muito provavelmente *Anisakis simplex* (s.s.) e 33 *Anisakis pegreffii*. Ou seja, do total de larvas identificadas como Tipo I, 13% apresentava as características morfológicas correspondentes

a *A. simplex* s.s. e 87% correspondia a *A. pegreffii*. A presença predominante de *A. pegreffii* no grupo de larvas recolhidas poderá explicar o motivo pelo qual nenhuma larva foi encontrada no tecido muscular dos peixes dissecados. Alguns estudos sugerem que *A. pegreffii* e *A. simplex* (s.s.) possuem diferentes locais preferenciais de infecção na pescada (*M. merluccius*), de modo a que as larvas L3 de *A. pegreffii* mostram uma menor tendência a ser encontradas no tecido muscular (Cipriani *et al.* 2014). Relativamente à capacidade de migração de larvas L3 de *A. pegreffii* em estudos experimentais, detetou-se que estas mostravam uma menor capacidade de migrar da víscera para o músculo, comparativamente com as larvas L3 de *A. simplex* (s.s.), aquando do aumento da temperatura da carcaça para valores elevados (> 25° C) (Quiazon *et al.* 2011). Por outro lado se tivéssemos utilizado o método de deteção por estudo de eletroforese, talvez fosse possível encontrar mais larvas de *Anisakis* spp. no tecido muscular.

Estudos levam a crer que a presença de nematodes anisquídeos no mesentério poderá afetar negativamente o estados das reservas de energia no fígado durante o desenvolvimento gonadal da pescada, sendo que *A. pegreffii* aparenta afetar especialmente as reservas de energia presentes nas gónadas (Ferrer-Maza *et al.*, 2013). Esta teoria poderá reforçar a sugestão de que infecções com estes nematodes estão associadas à perda de condição corporal do hospedeiro paraténico e conseqüente redução das suas capacidades natatórias tornando-os deste modo presas mais fáceis para os mamíferos marinhos predatórios, que são os hospedeiros definitivos do ciclo de vida dos anisquídeos (Buchmann & Mehrdana, 2016). No nosso estudo o fígado foi a víscera mais infetada com larvas L3, apresentando uma proporção de 43%, enquanto as gónadas ficavam em segundo lugar com uma prevalência de 33%. Os valores de infecção do fígado e gónadas são diferentes dos valores apresentados num outro estudo que estudou o grau de parasitismo de *Anisakis* spp. em pescada capturada no Mar Adriático (Mladineo & Poljak, 2014). Nesse estudo o fígado apresentou um nível de infecção de 64.53% e as gónadas de 13.51%. Por outro lado, no estudo conduzido por Borges (2008), em pescadas capturadas no Atlântico e obtidas nas lotas de Setúbal e Peniche, verificou-se que a cavidade abdominal era o local com maior grau de parasitismo, seguida do fígado. Mais uma vez, acreditamos que o fator da influência da localização geográfica e as idades das pescadas estudadas no grau de parasitismo, devem ser tidas em conta para explicar estes resultados.

##### 5.5. Distribuição Geográfica

Na Península Ibérica, especialmente Portugal, é importante tentar reunir informação epidemiológica relativamente ao estado de parasitismo do *Anisakis* spp. nas águas do Atlântico e Mediterrâneo. Aparentemente uma das razões para o aumento de produtos da

pesca parasitados com este parasita é atribuída ao aumento de mamíferos marinhos, registado nestas áreas geográficas (Buchmann & Mehrdana, 2016). Outros autores (Mattiucci *et al.*, 2014; Susuki *et al.*, 2010; Valero *et al.*, 2006) observaram diferenças nos níveis de parasitismo de diferentes espécies de *Anisakis* em peixes hospedeiros de diferentes áreas geográficas (Cipriani *et al.*, 2014). Num estudo conduzido por Cipriani *et al.* (2014), considerou-se a possibilidade de que os diferentes níveis de parasitismo de *A. pegreffii* obtidos de diferentes áreas de pesca, costa Atlântica de Espanha e Mar Mediterrâneo, aparentam estar relacionados com o facto de que a costa Atlântica é uma área altamente povoada por várias espécies de cetáceos que se incluem na lista de hospedeiros finais para estes nematodes (Mattiucci and Nascetti, 2008). No Mar Mediterrâneo, os níveis comparativamente menores de parasitismo parecem estar relacionados com o facto de haver uma maior perturbação e ação do Homem nesta área (turismo, tráfego marítimo), que afeta negativamente a densidade populacional dos hospedeiros intermediários e definitivos envolvidos no ciclo de vida de nematodes anisacuídeos (Cipriani *et al.*, 2014; Mattiucci and Nascetti, 2006). Em Portugal o estudo conduzido por Silva e Eiras (20013) com pescadas capturadas na Costa Atlântica Oeste de Portugal revelou uma prevalência de 100% e no estudo conduzido por Borges (2008) a prevalência de *Anisakis* spp. em pescadas obtidas na lota de Peniche foi de 54.30% e em pescadas obtidas na lota de Setúbal foi de 48.38%. A diferença entre estas prevalências e a que foi obtida no nosso estudo (76.67%) poderá prender-se não só nas diferentes dimensões dos exemplares utilizados em cada amostra, como também poderá estar associada às diferentes localizações geográficas dos locais de captura.

## 6. Conclusões

Atendendo as atividades de controlo hígio-sanitário desenvolvidas na fileira do pescado, é possível verificar que a maioria dos perigos associados ao consumo de pescado encontram-se sob rigorosos planos de controlo que permitem assegurar a saúde do consumidor. A verdade é que ao longo do trabalho que acompanhei na Direção de Serviços da Região Norte, foi possível observar o esforço e empenho que os Médicos Veterinários Oficiais aplicam todos os dias no desempenho das suas funções. Estes profissionais vivem com a dura realidade que é trabalhar com um setor antigo e muitas vezes empobrecido no qual os operadores lutam para sobreviver, num comércio cada vez mais exigente e concorrido, enquanto tentam satisfazer as exigências hígio-sanitárias. Neste aspeto o Médico Veterinário ocupa um papel importante na fileira do pescado não só como fiscalizador de estabelecimentos como também de elo de comunicação entre as autoridades competentes e os operadores. Ainda assim, o seu trabalho precisa de ser reforçado relativamente à fiscalização em estabelecimentos como as lotas pois é neste ponto de partida, no qual decorre o desembarque e primeira venda, que são encontrados mais problemas no controlo e prevenção de perigos.

Um dos problemas mais frequentemente encontrado foi a atitude a tomar perante produtos de pesca parasitados. O Regulamento (CE) n.º 854/2004 impõe às autoridades competentes a realização de controlos ao longo da fileira que permitam verificar o cumprimento da legislação comunitária sobre parasitas, e o Regulamento (CE) n.º 853/2004 reforça esta ideia com o requisito de que produtos obviamente contaminados por parasitas não podem ser colocados no mercado. Mas como foi possível constatar neste trabalho, esta avaliação é maioritariamente visual e é muito dependente da experiência e julgamento do observador. Se aliarmos este modo de avaliação ao facto de que o Regulamento (CE) n.º 2074/2005 define que o exame ou inspeção visual é um exame não destrutivo, e sabendo que o parasita se encontra distribuído em todo o músculo, é difícil de definir com toda a certeza o grau de parasitismo do peixe inspecionado. O parasitismo por *Anisakis* spp. é uma realidade que merece maior preocupação por parte das autoridades competentes em Portugal e nos restantes países europeus. Como foi possível de verificar neste trabalho, ainda que a identificação visual de larvas seja o método de referência (Llarena-Reino *et al.*, 2012) e portanto o mais utilizado, este método possui uma baixa sensibilidade e precisão comparativamente com os métodos de estudo molecular que infelizmente são mais lentos e portanto incompatíveis com o trabalho na indústria de produtos da pesca.

Outro fator a ter em conta relativamente à presença de *Anisakis* spp. na pescada é o facto de que faz parte da gastronomia Portuguesa a confeção das gónadas de pescadas adultas para consumo humano. Recordando que este órgão é um dos que apresenta maior

prevalência destes nematodes, sendo que no nosso estudo foi o segundo órgão mais parasitado por estes nematodes, entendemos que se revela interessante aprofundar o nosso estudo de forma a obter mais dados quanto à prevalência de *Anisakis* spp. nas gónadas de pescadas adultas, pois ainda que as gónadas sejam submetidas a cozedura para a confeção de “ovas de pescada”, a bibliografia consultada demonstra que o risco de anisaquiose alérgica poderá continuar presente caso estas se encontrassem previamente parasitas.

É compreensível a necessidade de estudos sobre os graus de parasitismo de *Anisakis* spp. nas diferentes espécies de peixe de valor comercial, já que o aumento da popularidade a nível mundial de pratos como o *sushi* e outros pratos que utilizem peixe cru ou parcialmente cru, vai proporcionar o aumento de risco de desenvolvimento de anisaquidose. Este risco só se agrava quando muitos chefes confeccionam os seus pratos com peixe de menor qualidade ou quando acreditam que a confeção destes pratos deve ser realizada com peixe fresco cru. Associando este conhecimento aos elevados valores de parasitismo registados em estudos realizados a nível mundial, especialmente na Europa, é essencial ter em atenção o decorrente aumento do consumo pescado, principalmente de peixe cru, que se tem constatado no mundo ocidental. Há diversas especialidades gastronómicas em países Europeus que se não forem adequadamente tratadas, podem representar um perigo acrescido de episódios gastroalérgicos ou alérgicos a *A. simplex* como são os casos do *sushi*, *sashimi*, salmão fumado (ou arenque, cavala, espadilha, sardinha), ceviche, arenque salgado ou anchovas marinadas (EFSA, 2010). Ainda que se reconheça que a lei comunitária obriga a aplicação de tratamentos térmicos para prevenir e controlar a transmissão de parasitas não trematodes ao Homem (Regulamento (CE) n.º 853/2004), existe sempre o risco da confeção em casa de refeições japonesas por consumidores que desconhecem os cuidados necessários a ter aquando da sua execução. Uma vez que eliminar totalmente o risco de anisaquidose é difícil, pois implicaria impedir que peixes selvagens adquirissem os parasitas durante toda a vida (Ramos, 2011), as medidas mais sensatas a tomar são em primeiro lugar, as de prevenção e controlo a nível dos produtos da pesca, em segundo lugar, as de promoção de ações que permitam informar o consumidor acerca do risco de anisaquidose/anisaquiose associado ao consumo de peixe cru ou parcialmente cru, e, por último, o reforço da ideia de que não se deve comer peixe fresco cru. Estas ações poderiam partir não só das autoridades competentes como também dos próprios operadores de estabelecimentos do setor alimentar através da rotulagem e/ou avisos que forneçam informações relativas ao risco de consumo de peixe cru.

Por fim, fazendo o confronto entre as nossas conclusões e o que se verifica neste âmbito atualmente em Portugal, não nos restam dúvidas de que é necessário reunir informação sobre os níveis de parasitismo de *Anisakis* spp. nas diferentes espécies de peixe de maior valor

comercial e mais populares neste país. E, sabendo que a pescada (*M. merluccius*) faz parte dos hábitos alimentares da população Portuguesa, que se encontra na lista das espécies demersais mais popularmente capturadas na Europa Ocidental e que é frequentemente utilizada na gastronomia Portuguesa, nomeadamente as suas gónadas, consideramos que o nosso estudo relativo à presença, localização e identificação de espécies de *Anisakis* na pescada, é um contributo enquanto fonte de informação do grau de parasitismo de nematodes anisaquídeos nas águas da costa portuguesa.

Pese embora o nosso estudo, entendemos que será necessário realizar mais estudos para clarificar a situação de *A. simplex* (s.s) e *A. pegreffii* na pescada adulta na costa Atlântica de Portugal, nos quais o tamanho da amostra seria maior e com exemplares de pescada (*M. merluccius*) adulta, de modo a obter nova informação do ponto de vista epidemiológico e para avaliar melhor o risco associado ao seu consumo.

## Bibliografia

- Ababouch L, Gram L (2003). Production of biogenic amines. In: Assessment and Management of Seafood safety and Quality (Eds. Huss HH, Ababouch L, Gram L), Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome. <http://www.fao.org/docrep/006/y4743e/y4743e0a.htm#bm10>
- Abollo E, Gestal C & Pascual S (2001). – *Anisakis* infestation in marine fish and cephalopods from Galicia waters: a new perspective. *Parasitol. Res.*, 87, 492-499.
- Adams AM, Murrell KD, Cross JH (1997). Parasites of fish and risks to public health. *Rev. Sci. Technol.* 16, 652-660.
- Androher FJ, Valero A, Ruiz-Valero J, Iglesias L (1996). Larval anisakids (Nematoda: Ascaridoidea) in horse mackerel (*Trachurus trachurus*) from the fish market in Granada (Spain). *Parasitol. Res.* 82, 319-322.
- Anderson RC (1992). Nematode Parasites of tVertebrates: Their Development and Transmission. CAB International. Wallingford. UK.
- ASAE (2007). HACCP. <http://www.asae.pt/>
- Audicana MT, Ansotegui IJ, de Corres LF, Kennedy MW (2002). *Anisakis simplex*: Dangerous – Dead and alive? *Trends Parasitol.* 18, 20-25
- Berland B (1961). Nematodes from the Norwegian marine fishes. *Sarsia.* 2, 1-50.
- Borges S (2008). Nematodes da Família Anisakidae em peixes de elevado consumo em Portugal e provenientes das Lotas de Peniche e de Setúbal: Intensidade do parasitismo, Prevalência e Potencial Zoonótico. Universidade Técnica de Lisboa, FMVL.
- Bouree P, Paugam A, Petithory JC (1995). Anisakidosis: report of 25 cases and review of the literature. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.* 18, 75-84.
- Buchmann K, Mehrdana F (2016). Effects of anisakid nematodes *Anisakis simplex* (s.l.), *Pseudoterranova decipiens* (s.l.) and *Contracaecum*(...), *Food and Waterborne Parasitology*, <http://dx.doi.org/10.1016/j.fawpar.2016.07.003>
- Chai JY, Darwin Murrell K, Lymbery AJ (2005). Fish-borne parasitic zoonoses: status and issues. *Int. J. Parasitol.*, 35, 1233-1254.
- Chord-Auger S, Miegerville M, Le Pape P (1995). Anisakiasis in the Nantes area: from fishmongers' stalls to medical offices [in France]. *Parasite.* 2, 395-400.
- Cipriani P, Acerra V, Bellisario B, Sbaraglia GL, Cheleshi R, Nascetti G, Mattiucci S (2016). Larval migration of the zoonotic parasite *Anisakis pegreffii* (Nematoda: Anisakidae) in European anchovy, *Engraulis encrasicolus*: Implications to seafood safety. *Food Control* 59, 148-157, <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.04.043>.
- Cipriani P, Smaldone G, Acerra V, D'Angelo L, Anastasio A, Bellisario B, *et al.*, (2014). Genetic identification and distribution of the parasitic larvae of *Anisakis pegreffii* and *Anisakis simplex* (s.s.) in European hake *Merluccius merluccius* from the Tyrrhenian Sea and Spanish Atlantic coast: implications for food safety. *Int. J. Food Microbiol.*, 198, 1-8.
- Cruz C, Barbosa C, Saraiva A (2007). Distribution of larval anisakids in blue whiting off Portuguese fish market. *Helminthologia*, 44, 21-24.
- Daschner A, Alonso-Gómez A, Cabañas R, Suarez-de-Parga MI, López-Serrano M-C (2000). Gastroallergic anisakiasis: Borderline between food allergy and parasitic disease – clinical and allergologic evaluation of 20 patients with confirmed acute parasitism by *Anisakis simplex*. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 105, 176-181.
- Decreto Regulamentar m.º 31/2012 de 20 de março de 2012. Direção-Geral de Alimentação e Veterinária. Ministério da Agricultura, Desenvolvimento Rural e Pescas. <http://www.dgv.min-agricultura.pt/>
- DPDx (2013). Anisakiasis. <http://www.cdc.gov/dpdx/anisakiasis/index.html>
- Duarte FC (2004). A Indústria Transformadora dos Produtos da Pesca em Portugal – Entre a tradição e o futuro. Comunicação na XXII Semana das Pescas dos Açores, Faial.
- EFSA Panel on Biological Hazards (BIOHAZ); Scientific Opinion on risk assessment of parasites in fishery products. *EFSA Journal* 2010; 8, 1-91. doi:10.2903/j.efsa.2010.1543
- EUMOFA. The EU Fish Market, 2015 Edition. European Commission.

- FAO.2016. The state of World Fisheries and Aquaculture 2016. Contribution to food security and nutrition for all. Rome. 200p
- FAO/WHO [Food and Agriculture Organization of the United Nations/ World Health Organization]. (2010). Report of the joint FAO/WHO Expert Consultation on the Risks and Benefits of Fish Consumption. FAO Fisheries and Aquaculture Report, 979.
- FAO/WHO [Food and Agriculture Organization of the United Nations/World Health Organization]. (2013). Public Health Risks of Histamine and other Biogenic Amines from Fish and Fishery Products. Meeting Report. pp. 1-35
- FDA (2011). Fish and Fishery Products – Hazards and Controls Guidance, 4<sup>a</sup> Ed., Food and Drug Administration – FDA.
- Ferrer-Maza D, Lloret J, Muñoz M, Faliex E, Vila S, Sasal P (2013). Parasitism, condition and reproduction of the European hake (*Merluccius merluccius*) in the northwestern Mediterranean Sea. ICES journal of Marine Science. 71, 1088-1099.
- František Moravec (1998). Nematodes of Freshwater fishes of the Neotropical Region. Academia, Praha. 190-195.
- Gómez Sáenz JT, Gérez Callejas MJ, Zangróniz Uruñuela MR, Muro Ovejas E, González JJ, García Palacios MJ (1999). Reacciones de hipersensibilidad y manifestaciones digestivas producidas pela ingestión de pescaso parasitado por *Anisakis simplex*. Semergen, 25, 792-797.
- Hochberg NS, Hamer Davidson (2010). Anisakidosis: Perils of the deep. Emerging Infections, 806-812.
- Hungerford JM (2010). Scombrotoxic poisoning: a review. Toxican., 56, 231-243.
- Huss HH (1994). Assurance of Seafood Quality. FAO Fishery Technical Paper No. 334, Rome, Italy.
- Huss HH (1995). Quality and quality changes in fresh fish. FAO Fishery Technical Paper No. 348, Rome, Italy.
- Huss HH, Ababouch L, Gram L (2003). Assessment and Management of Seafood safety and Quality. FAO Fisheries Technical Paper No. 444, Rome, Italy.
- Huss HH, Embarek PKB (2003). Characterization of hazards in seafood. In: Assessment and Management of Seafood safety and Quality (Eds. Huss HH, Ababouch L, Gram L), Food and Agriculture Organization of the United Nations, Roma, pp. 26-84.
- Instituto Nacional de Estatística, I.P. Estatísticas da Pesca 2015. Lisboa, Portugal.
- Ito Y, Ikematsu Y, Yuzawa H, *et al.* (2007). Chronic gastric anisakiasis presenting as pneumoperitoneum. Asian J. Surg., 30, 67-71.
- Ivanovic J, Baltic MZ, Boskovic M, Kilibarda N, Dokmanovic M, Markovic R, Jarjic J, Baltic B (2015). Anisakis infection and allergy in humans. Procedia Food Science, 5, 101-104.
- Karl H, Levsen A (2011). Occurrence and distribution of anisakid nematodes in grey gurnard (*Eutrigla gurnardus* L.) from the North Sea. Food Control 22, 1634-1638.
- Kassai T, Cordero del Campillo M, Euzéby J, Gaafar S, Hiepe Th, Himonas CA (1988). Standardized nomenclature of animal parasite diseases (SNOAPAD). Vet. Parasitol., 29, 299-326.
- Koie M, Berland B, Burt MDB (1995). Development to third-stage occurs in the eggs of *Anisakis simplex* and *Pseudoterranova decipiens* (Nematoda, Ascaridoidea, Anisakidae). National Research Council of Canada, Ottawa, ON, CANADA, 260p.
- Koyama T, Kobayashi A, Kumada M, Komiya Y (1969). Morphological and taxonomical studies on Anisakidae larvae found in marine fishes and squids. JPN J. Parasitol., 18, 466-87.
- Lees D (2000). Viruses and bivalve shellfish. International Journal of Food Microbiology, 59, 81-116.
- Lehane L, Olley J (2000). Histamine fish poisoning revisited. International Journal of Food Microbiology, 58, 1-37.
- Llarena-Reino M, González AF, Vello C, Outeirino L, Pascual S (2012). The accuracy of visual inspection for preventing risk of *Anisakis* spp. infection in unprocessed fish. Food Control, 23, 54-58.

Marques JF, Cabral HN, Busi M, D'Ameli S (2006). Molecular identification of *Anisakis* species from Pleuronectiformes of the Portuguese coast. *Journal of Helminthology*. 80, 47-51.

Mattiucci S, Abounza P, Ramadori L, Nascetti G (2004). Genetic identification of *Anisakis* larvae in European hake from Atlantic and Mediterranean waters for stock recognition. *J. Fish Biol.* 65, 495-510.

Mattiucci S, Cipriani P, Webb SC, Paoletti M, Marcer F, Bellisario B, Gibson DI, Nascetti G (2014). Genetic and morphological approaches distinguish the three sibling species of the *Anisakis simplex* species complex, with a species designation as *Anisakis berlandi* n.sp. for *A. simplex* sp. C (Nematoda: Anisakidae). *J. Parasitol.* 100, 199-214

Mattiucci S, Nascetti G (2008). Advances and trends in the molecular systematic of anisakid nematodes, with implications for their evolutionary ecology and host-parasite co-evolutionary processes. *Adv. Parasitol.* 66, 47-148.

Mattiucci, S., Paoletti, M. & Webb, S.C. (2009) *Anisakis nascettii* n. sp. (Nematoda: Anisakidae) from beaked whales of the southern hemisphere: morphological description, genetic relationships between congeners and ecological data. *Syst Parasitol* 74: 199.

McCarthy J, Moore T (2000). Emerging helminth zoonoses. *Int. J. Parasitol.* 30, 1351-1360.

Mladineo I, Poljak V (2014). Ecology and Genetic Structure of zoonotic *Anisakis* spp. from Adriatic commercial fish species. *Applied and Environmental Microbiology*, 80, 1281-1290. <http://aem.asm.org/>

Mo TA, Gahr A, Hansen H, Hoel E, Oaland Ø, Poppe TT (2014). Presence of *Anisakis simplex* (Rudolphi, 1809 det. Krabbe 1878) and *Hysterothylacium aduncum* (Rudolphi, 1802) (Nematoda; Anisakidae) in runts of farmed Atlantic salmon, *Salmo salar* L. *Journal of Fish Diseases*, 37, 135-140.

Moneo I, Caballero M-L, Gómez F, Ortega E, Alonso MJ (2000). Isolation of a heat-resistant allergen from the fish parasite *Anisakis simplex*. *Parasitol. Res.* 96, 285-289.

Nawa Y, Hatz C, Blum J (2005). Sushi delights and parasites: the risk of fishborne parasitic zoonoses in Asia. *Clin. Infect. Dis.* 41, 1297-1303.

Novotny L, Dvarska L, Lorencova A, Beran V, Poulik I (2004). Fish: a potential source of bacterial pathogens for human beings. *Vet. Med. – Czech*, 49, 343-358.

Nunes C, Ladeira S, Mergulhão A (2003). Alergia ao *Anisakis simplex* na população portuguesa. *Revista Portuguesa de Imunoalergologia*, XI, 30-40.

Oshima T (1987). Anisakiasis – Is the sushi bar guilty?. *Trends in Parasitology* 3, 44-48.

Paula Ramos (2011). *Anisakis* spp. Em bacalhau, *sushi* e *sashimi*: risco de infecção parasitária e alergia. *RPCV*, 106 (577-580), 87-97.

Petrić M, Mladineo I, Krstulović Šifner S. (2011). Insight into short-finned squid *Illex coindetii* (Cephalopoda: Ommastrephidae) feeding ecology: is there a link between helminth parasites and food composition? *J. Parasitol.* 97, 55-62. <http://dx.doi-org/10.1645/GE-2562.1>.

Pozio E (2013). Integrating animal health surveillance and food safety: the example of *Anisakis*. *Rev. sci. tech. Off. Int. Epiz.*, 32, 487-496

Quiazon K, Yoshinaga T, Ogawa K, Yukami R (2008). Morphological differences between larvae and *in vitro*-cultured adults of *Anisakis simplex* (sensu stricto) and *Anisakis pegreffii* (Nematoda: Anisakidae). *Parasitol. Int.* 57, 483-489.

Regulamento (CE) n.º 178/2002 do Parlamento Europeu e do Conselho de 28 de janeiro de 2002

Regulamento (CE) n.º 2074/2005 da Comissão de 5 de dezembro de 2005

Regulamento (CE) n.º 2206/96 do Conselho de 26 de novembro de 1996

Regulamento (CE) n.º 852/2004 do Parlamento Europeu e do Conselho de 29 de abril de 2004

Regulamento (CE) n.º 853/2004 do Parlamento Europeu e do Conselho de 29 de abril de 2004

Regulamento (CE) n.º 854/2004 do Parlamento Europeu e do Conselho de 29 de abril de 2004

Regulamento (CE) n.º 882/2004 do Parlamento Europeu e do Conselho de 29 de abril de 2004

- Rello FJ (2003). Estudio de los anisákidos parásitos de pescado comercializado en Granada: Faneca, sardina y boquerón. Phd Thesis, Universidade de Granada, Granada.
- Rello FJ, Adroher FJ, Benitez R, Valero A (2009). The fishing area as a possible indicator of the infection by anisakid in anchovies (*Engraulis encrasicolus*) from southwestern Europe. *Int. J. Food Microbiol.* 129, 277-281. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2008.12.009>.
- Shirahama M, Koga T, Ishibashi H, Uchida S, Ohta Y, Shimoda Y (1992). Intestinal anisakiasis: US in diagnosis. *Radiology*, 185 (3): 789-793.
- Silva MER, Eiras JC (2003). Occurrence of *Anisakis* sp. in fishes off the Portuguese West Coast and evaluation of its zoonotic potential. *Bull. Eur. Ass. Fish Pathol.*, 23(1), 13.
- Smith JW (1984). The abundance of *Anisakis simplex* L3 in the body cavity and flesh of marine teleost. *Int. J. Parasitol.*, 14, 491-495.
- Smith JW, Wootten R (1975). Experimental studies on the migration of *Anisakis* sp. larvae (Nematoda: Ascaridida) into the flesh of herring, *Clupea herengus* L.. *Int. J. Parasitol.*, 5, 133-136.
- Smith JW, Wootten R (1978). *Anisakis* and anisakiasis *Adv. Parasitol.*, 16, 93-163
- Suzuki J, Murata R, Hosaka M, Araki J (2010). Risk factors for human *Anisakis* infection and association between the geographical origins of *Scomber japonicas* and anisakid nematodes. *Int. J. Food Microbiol.* 137, 88-93.
- Taylor SL (1986). Histamina food poisoning: toxicology and clinical aspects. *Crit. Rev. Toxicol.* 17, 91-128.
- Ubeira FM, Valinas B, Lorenzo S, Iglesias R, Figueiras A, Garcia-Villaescusa R (2000). Anisakirosis y alergia. Un estudio seroepidemiológico en la Comunidad Autónoma Gallega. Documentos técnicos de Salud Pública, serie B, 24, Ed. Consellería de Sanidade e Servizos Sociais (Xunta de Galicia, España).
- Vale P (2011). Biotoxinas emergentes em águas europeias e novos riscos para a saúde. *Ver. Port. Saúde Pública.* 29, 77-87
- Valero A, Lopez-Cuello M, Benitez R, Adroher FJ (2006). *Anisakis* spp in European hake, *Merluccius merluccius* (L.) from the Atlantic off north-west Africa and the Mediterranean of Southern Spain. *Acta Parasitol.* 51, 209-212.
- Valero A, Martín-Sánchez J, Reyes-Muelas E, Adroher FJ (2000). Larval anisakids parasitizing the blue whiting, *Micromesistius poutassoul*, from Motril Bay in the Mediterranean region of Southern Spain. *J. Helminthol.*, 74, 361-364.
- Van Thiel P (1960). *Anisakis*. *Parasitology*, 53, 16.
- Van Thiel PH (1962). Anisakiasis. *Parasitology*, 52, 16-17.
- Vaz-Pires PMR (2006). Tecnologia do pescado – Apontamentos da unidade curricular de Tecnologia Alimentar da Licenciatura de Ciências do Meio Aquático. Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar.
- Vidal-Martinez VM, Osorio-Saraiba D, Overstreet RM (1994). Experimental infection of *Contracaecum multipapillatum* (Nematoda: Anisakinae) from Mexico in the domestic cat. *J. Parasitol.* 80, 576-579.
- Vuong PN, Du Puy Montbrun T, Lemarchand N, Ganansia RP, Merygnac P e Houissa-Vuong S (2000). Anisakiasis of the small intestine mimicking a metastatic tumor: a new French case. *Méd. Mal Infect.*, 30, 528-532.
- Whipple MJ, Rohovec JS (1994). The effect of heat and low pH on selected viral and bacterial fish pathogens. *Aquaculture*, 123, 179-189.

## Anexos

**Resumo das atividades desenvolvidas no decorrer do estágio realizado na DGAV:**

O estágio realizado, que se iniciou a setembro de 2015 e terminou a janeiro de 2016, respeitou as normas exigidas pelo atual regulamento do estágio curricular, do Mestrado Integrado de Medicina Veterinária da Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro. No decorrer do estágio foi possível entender melhor o papel do Médico Veterinário na fileira do pescado acompanhando o trabalho da Direção de Serviços Veterinários da Região Norte.

Ao longo do período de estágio foi possível observar e compreender o papel fundamental que o Médico Veterinário Oficial desempenha na fiscalização de estabelecimentos do setor alimentar, na forma de visitas oficiais e realização de planos de controlo, e o elo de comunicação que estes profissionais representam na relação entre operadores de estabelecimentos do sector alimentar e autoridades competentes.

Ao longo do período de estágio foi possível adquirir e colocar em prática diversos conhecimentos nomeadamente relativos à avaliação hígio-sanitária dos produtos da pesca, de acordo com a legislação alimentar atual, nas diferentes fases da fileira do pescado. Desta forma foi possível:

- Acompanhar auditorias no âmbito de segurança sanitário e aplicação de medidas de higiene, nos diferentes estabelecimentos do setor alimentar (embarcações/navios-fábrica, lotas, conserveiras, armazéns frigoríficos, armazéns de géneros alimentícios que não carecem de temperatura controlada, sala de desmancha, estabelecimento de assadura de carnes);
- Seguir e entender a lista de verificação de cumprimentos, no decorrer de visitas oficiais, com base na legislação alimentar atual;
- Observar e compreender o preenchimento de autos de vistoria;
- Acompanhar a recolha e colheita de amostras de acordo com o necessário para realização de planos de controlo oficiais, nomeadamente no âmbito do PIGA (Plano de Inspeção de Géneros Alimentícios) e PNPR (Plano Nacional de Pesquisa de Resíduos);
- Adquirir e colocar em prática capacidades de análise sensorial nos diferentes produtos da pesca, ao longo da fileira do pescado;

- Ganhar competências relativamente ao desenvolvimento e avaliação de um correto Plano HACCP (Hazard Analysis Critical Control Points), de acordo com a finalidade do estabelecimento do setor alimentar;
- Obter conhecimentos no âmbito do funcionamento das linhas de produção de conservas de produtos da pesca;
- Observar as maiores dificuldades encaradas pelos operadores de estabelecimentos do setor alimentar aquando da aplicação das medidas de higiene e segurança alimentar exigidas pela legislação alimentar;
- Desenvolver capacidades profissionais e sociais consequentes da interação com profissionais dos diferentes estabelecimentos do setor alimentar;
- Confrontar os conhecimentos académicos teóricos adquiridos no decorrer do Mestrado Integrado de Medicina Veterinária, com a realidade e a prática do exercício da profissão na fileira do pescado.

De uma forma geral o estágio proporcionou uma experiência que acredito que dificilmente seria obtida de outro modo.

Através das atividades desenvolvidas nas lotas foi possível conhecer toda uma série de indivíduos que direta ou indiretamente fazem parte de uma seção muito especial da sociedade Portuguesa, os pescadores. São pessoas de costumes próprios com as quais em termos profissionais o Médico Veterinário aprende a adaptar-se da melhor maneira que consegue para obter o respeito mútuo e simpatia que necessita para desempenhar melhor o seu trabalho. Ainda assim pude constatar que na fileira do pescado o Médico Veterinário continua a ter que lutar pelo respeito profissional. Muitas das intervenções que o Médico Veterinário tem que tomar na Lota ficam aquém das expectativas devido à falta de recursos disponíveis e da impossibilidade de uma presença mais frequente.